ANTONINO RODOLICO

1911-1932

RICERCHE DI BIOLOGIA

CON DIECI TAVOLE E CINQUE FIGURE NEL TESTO

FIRENZE
FELICE LE MONNIER
MCMXXXIV-XII

ANTONINO RODOLICO

1911-1932

RICERCHE DI BIOLOGIA

CON DIECI TAVOLE E CINQUE FIGURE NEL TESTO

FIRENZE
FELICE LE MONNIER
MCMXXXIV-XII

INDICE.

ANTONINO RODOLICO

1911-1932

Consummatus in brevi explevit
tempora multa....
SAP. IV, 13.

Non attraverso le parole di dolore e di rimpianto di un padre, ma attraverso queste notizie degli ultimi giorni di un giovane morto a ventun anno, conosca il Lettore un'anima, prima di giudicare obbiettivamente il valore di questi scritti, e di misurarlo entro il breve termine di pochi anni di vita.

Convengo: nel suo dolore un padre può non essere serenamente obbiettivo. E però, in tale mio dubbio, ho cercato la testimonianza di quelli che assistettero negli ultimi giorni di vita il mio Figliuolo, e che, ad un anno e più di distanza, erano nelle più serene condizioni di spirito. Don Raffaele Bensi, il Priore della nostra Parrocchia, che conobbe Nino fin da ragazzo, e che fu il suo confessore, così mi scrisse:

Carissimo professore,

.... Debbo pur dirLe che le finezze e le luminosità della vita di Nino negli ultimi giorni non si possono ridire. Mai nel mio ministero, non mai ho visto un esempio simile.

Quello che soprattutto mi colpì fu la certezza della morte sentita venire e precisata nel tempo con esattezza impressionante, e l'andargli incontro con la fredda serietà dello scienziato per una suprema esperienza e il completo abbandono in Dio. Non un attimo di paura, non un rimpianto per tante belle cose da lasciarsi, una volontà salda di offrire la sua vita non con rassegnazione,

ma con gioia. E chiese offerta gioiosa anche da Lei, professore, ricorda?, da tutti i suoi Cari, dalla Misia sua tanto amata, da tutti noi che non potevamo trattenere le lacrime. ' Don Bensi, — mi disse — perchè piangere? In questo momento, innanzi a Dio, chi più di noi due felice?'

Ricorda quante volte mi volle accanto per la purificazione più completa, e con quale comprensione ed amore volle e ricevè i Sacramenti?

Ricorda come a me che volevo bagnare col ghiaccio le sue labbra riarse chiese se non sarebbe stato più bello fare un piccolo sacrificio?

Ricorda l'abbraccio a tutti i suoi compagni universitarî, sì calmo, sì pieno di promesse e di certezze?

I consigli a Nanni, le raccomandazioni a Francesco con tanta esattezza, con tanta fermezza?

Parlai di Lui a tutti i miei scolari di Liceo, e vidi commozioni profonde, e so di ricordi che non si sono estinti.

Anche per me.

Vorrei anch' io andare un giorno incontro al mio Dio, così come Nino.

Firenze, dicembre 1933.

Dev.mo

RAFFAELE BENSI.

La Madre Superiora delle Suore della Casa di Cura, così mi scrisse:

J. M. J.

Monsieur le Professeur,

Nous gardons très vivant le souvenir de votre fils aimé que nous avons soigné dans notre clinique. Au cours des nombreuses années que nous avons passées à assister les malades et les mourants nous n'avons jamais vu un exemple plus beau de ferveur et de sérénité joyeuse pour faire à Dieu le sacrifice de la vie.

L'opération chirurgicale faite dans les meilleures conditions éloignait toute idée d'un dénouement fatal, mais

lui, le cher enfant, prévoyait, sa fin. Quelques heures après l'intervention, la religiéuse qui le soignait lui demanda s'il se trouvait mieux : « Oui ! — répondit-il — très bien, parce que je vais aller au Ciel ! ».

L'état du malade devenant désespéré je lui suggérai de faire le sacrifice de sa vie, « Oui, ma Mère, je l'ai déjà fait, je suis prêt ». Il voulut de nouveau les sacrements : « Je veux Jésus — dit-il — demain à cinq heures, je serai mort ». Ce fut en effet la vérité !

Ses paroles et ses actes tout imprégnés d'esprit de sacrifice, de joyeux abandon nous édifièrent profondément.

Sa fiancée pleurait et lui disait qu'elle consacrerait toute sa vie à son souvenir, mais il répondit : « Non, au Ciel je prierai pour que tu sois heureuse sur la terre, ne pleure pas, je veux te voir sourire, nous nous retrouverons là-haut ! ».

Sa belle âme n'était pas faite pour s'entretenir avec les hommes, mais bien avec les Anges et les Saints. En lui se réalisa la promesse de Jésus : Bienheureux les coeurs purs, car ils verront Dieu ! !

La pureté de son âme, de son esprit, de son coeur auréolait sa physionomie d'un reflet de céleste lumière.

Dans le consolant souvenir que ce départ pour le Ciel laisse à nos âmes, je me dis, Monsieur le Professeur,

Votre toute dévouée

S[r] RAPHAEL Sup.[re]

Casa di cura « Villa Victoria », Janvier 1934.

Baciandomi per l'ultima volta mi disse : « Papà, non vedi come io son lieto ; sii tu sereno ! ».

E a sua Madre : « Mamma, la vita non è nostra ; è un dono di Dio ! ».

Nell'atrocità del male che tanto lo faceva soffrire, disse un momento : « Gesù, presto ! ». Ma si riprese subito, e disse : « No ! *Fiat voluntas tua !* ». E rivolgendosi a noi : « Sì, tutta la volontà, tutta ; e con tutto il cuore ripetiamolo, e non con le labbra ! ».

Nè queste e simili cose disse solo in un momento di esaltazione per una grazia divina, di cui era infiammato, ma per trentasei ore egli così parlava con mirabile serenità di spirito, e parlava dei suoi studî, e indicava al fratello dove avrebbe trovato i materiali di lavori avviati, e si rivolgeva ai Maestri, che erano venuti al suo letto di morte, con parole di gratitudine e con il bel sorriso che gl' illuminava lo sguardo, e parlava loro dei lavori che egli non avrebbe potuto proseguire e dava ai suoi cari affettuose raccomandazioni, e assicurava la persona carissima amata, che avrebbe nel Cielo pregato perchè l'avvenire a lei schiudesse quella felicità che egli aveva tutta per sè anelato.

Nè egli a questa sublimazione del suo essere perveniva da naturale misticismo e da intenso abituale esercizio di pratiche religiose ; era, sì, credente e praticante, ma nella norma comune. Egli amava la vita senza i limiti imposti dall'ascesi cristiana a coloro che oltre i precetti vogliono seguire i consigli evangelici. Egli amava la vita, e tutta ne sentiva la bellezza, e la gioia di vivere nella piena degli affetti del suo animo sensibilissimo, nel godimento pieno ed intenso delle emozioni, di cui natura ed arte lo esaltavano, nell'entusiamo del lavoro per la scienza pura, nelle speranze più lusinghiere dell'avvenire.

Pochi giorni prima della morte, in una escursione scientifica, raggiunta la vetta del Monte Amiata, da lassù nell'estatica ammirazione del cielo e della terra, scrivendo alla persona da lui amata, rivolgeva il pensiero a Dio. Egli ammirava, e pregava, ed amava.

*
* *

Alto, robusto, di eleganti forme di bellezza virile, aveva della purezza del fanciullo lo sguardo ed il sorriso.

Quando egli sedicenne stava per finire il corso liceale, ed aveva già pensato di avviarsi agli studi di scienze naturali, io credetti opportuno di assicurarmi

della sua vocazione, e volli mostrargli la impraticità dei suoi prediletti studî, e celiando, gli dissi che nella vita lo studio degli organi dei suoi insetti non sarebbe stato di giovamento nè a lui nè agli altri, nè materialmente, nè spiritualmente. Io lo veggo quel giovinetto nella luce crepuscolare di quella serata d'estate in una terrazza di faccia al mare, e sento ancora la sua voce. Egli, di solito, taciturno, e che, modestissimo, aveva sempre paura di apparire quel che egli era, colto e intelligente, quella sera nella intimità filiale, quasi nel segreto di comunione di anime, in quel silenzio del cielo stellato e dell'infinito, parlava animatamente dell'alto valore della scienza. Era una rivelazione per me. Era la sua, scienza e poesia.

Quando lo conducevo a viaggiare per l' Europa — era quello l'ambito premio delle vacanze — egli era fremente di gioia. L'animo era sensibilissimo alle bellezze naturali, ed il suo entusiasmo, ammirando i fiordi della Norvegia o il Danubio a Budapest, era non meno intenso dell'entusiasmo per un'opera d'arte a Dresda e a Parigi, come per i Musei di storia naturale e per i giardini zoologici di Stoccolma, di Berlino e di Londra. In quei Musei non era mai sazio di osservare, di notare e di confrontare. Lo spirito di osservazione, la tenace memoria e l'amore trasformavano le cose viste in una sostanziale cultura.

Doveva egli prestare servizio militare che lo avrebbe distratto dagli studi. Vi fu chi gli suggerì non so quale specialità di Arma, rifugio di scansa-fatiche. Dovette certamente pentirsi chi aveva dato quel consiglio : così aspro era stato il rimprovero con cui aveva Egli risposto. Egli voleva servire da soldato alpino. Appassionato della montagna, fiero di potere essere alpino italiano, egli sognava di vedere sulle Alpi nostre sventolare quel tricolore, che il Nonno suo, che accanto a Lui è sepolto sul colle fiesolano, aveva — regnando il Borbone — piantato nella piazza di Termini Imerese, sfidando la forca, e aspettando Garibaldi.

Prima di andar soldato Nino volle subire, a freddo,

nelle migliori condizioni fisiche, l'operazione dell'appendicite. L'operazione fu eseguita da mano esperta; e la setticemia sopraggiunta lo uccise il 4 ottobre 1932.

Aveva un profondo rispetto per i suoi Maestri, quasi timida soggezione. « Quando al mio ritorno da un lungo viaggio — così mi narrava il suo Maestro, Nello Beccari — egli mi riferì i risultati delle sue ricerche sul lavoro di tesi, io seguivo, sì, il suo pensiero con vivo compiacimento, ma io ero commosso nel vedere con quale sentimento di modestia e di soggezione egli parlava, egli, che pur doveva essere lieto e fiducioso dei risultati ottenuti, e che pur vedeva dal mio sguardo e sentiva dalle mie parole il mio vivo compiacimento ».

Ricordo il giorno della sua laurea: i Maestri furono allora con il padre di Nino buoni e cari come tre mesi dopo: il giorno della morte di Nino. A Pavia nel Congresso nazionale di Anatomia, proprio pochi giorni dopo la morte, così il professore Beccari ne dava notizia ai Congressisti:

Partecipo con dolore la morte, avvenuta pochi giorni fa, del Dott. ANTONINO RODOLICO, *di un giovane ventunenne che aveva iniziato con passione e brillantemente gli studi naturalistici nel mio Istituto rivelando doti non comuni di mente e di cuore.*

La comunicazione che Egli avrebbe dovuto svolgere si riferiva ad una serie di accurate ricerche i cui primi risultati Egli aveva presentato nel luglio scorso come tesi di Laurea che verrà pubblicata.

Riveduto con mezzi istologici adatti il processo istogenetico della gonade nelle ceche e nelle anguille giovani, si era poi particolarmente soffermato a studiare i caratteri strutturali dei corpi genitali delle anguille argentine; aveva tentato per mezzo del conteggio dei protogoni di

riconoscere il sesso negli stadi precoci ed aveva iniziato ricerche sperimentali, che intendeva estendere, sottoponendo le anguille che vanno al mare a forti pressioni.

L' Istituto di Anatomia e Fisiologia Comparate di Firenze, nel quale il Dott. RODOLICO *aveva intenzione di continuare il suo lavoro, così bene iniziato, perde una fiorente promessa.*

Il Beccari stesso nel presentare la Memoria sull'Anguilla nelle pubblicazioni della Stazione Zoologica di Napoli, segnalava la « somma notevole di importanti osservazioni » di quest'opera che « resta a testimoniare le doti d' ingegno non comuni di un giovane che alle Scienze Naturali si era affacciato con ardente amore e tenaci propositi ».

Parimenti, con gli stessi sentimenti di rimpianto e di stima, altro Maestro di Nino, Giovanni Negri, premetteva queste parole alla pubblicazione sull'embriologia delle Inulee, ultimo lavoro di Nino :

Le ricerche che hanno dato occasione alla pubblicazione di questa nota sono state eseguite dal compianto Dott. ANTONINO RODOLICO *durante il periodo di studi universitari, nel quale frequentò l' Istituto Botanico di Firenze, occupandovisi della embriologia e della citologia delle Inuleae. Esse sono state proseguite dal giovane Studioso sino al momento in cui interruppe la vita di laboratorio per sottoporsi all' intervento chirurgico che doveva avere esito fatale (4 ottobre 1932) ; ed anche nella loro condizione di incompletezza meritano di essere rese note per alcuni nuovi dati raggiunti ed in quanto rappresentano una continuazione di indagini precedenti sulla citologia ed embriologia del* Buphtalmum salicifolium.

Esse hanno inoltre per noi un valore particolare perchè rappresentano l'ultima attività botanica di questo amatissimo Allievo, così immaturamente sottratto ad una carriera scientifica che l' ingegno e la passione non comuni facevano sperare eccezionalmente brillante, e che, anche

nel nostro Istituto, da Lui frequentato nelle ore lasciate libere dalla Sua attività prevalentemente zoologica, è ricordato col più affettuoso rimpianto.

Col cuore di padre ringrazio i Maestri di Nino della Facoltà di Scienze dell' Università di Firenze: tutti Egli amò; e tutti Gli vollero bene, e mi prodigarono il conforto della loro parola di lode per Lui. E ricordo quella del maestro dei maestri, il Chiarugi, verso cui Nino aveva profonda l'ammirazione e la devozione « Quella è stata — così mi disse — grande perdita per la famiglia, e perdita per la Scienza ».

NICCOLÒ RODOLICO.

ELENCO DELLE PUBBLICAZIONI.

1. *Il numero dei cromosomi del ' Buphthalmum salicifolium ' L.* — « Nuovo Giornale Botanico Italiano », N. S., XXXVII, fasc. 2 (1930).
2. *Embriologia del ' Buphthalmum salicifolium ' L. (Asteraceae).* — « Idem », N. S., XXXVII, fasc. 3 (1930). Con due tavole e una figura nel testo.
3. *Curva peso-lunghezza e costanti relative nell'accrescimento dell'anguilla.* — « Bollettino della Società Italiana di Biologia Sperimentale », VII, fasc. 10 (1932). Con una figura nel testo.
4. *Tentativi per provocare sperimentalmente la maturazione sessuale nei maschi argentini di anguilla.* — « Idem », VII, fasc. 10 (1932). Con una figura nel testo.
5. *Contributi alla migliore conoscenza di presunti caratteri differenziali del sesso nelle ceche.* — « Idem », VII, fasc. 10 (1932). Con una figura nel testo.
6. *Caratteri differenziali del sesso nei corpi genitali delle anguille durante lo sviluppo.* — « Idem », VII, fasc. 10 (1932). Con una figura nel testo.
7. *Effetti nella rana di applicazioni cutanee di acidi grassi e di colesterina.* — « Idem », VII, fasc. 10 (1932).
8. *Differenziamento dei sessi ed ovo-spermatogenesi nell'anguilla (Ricerche istologiche e sperimentali).* — « Pubblicazioni della Stazione Zoologica di Napoli », XIII, fasc. 2 (1933). Con quattro tavole e dieci figure nel testo.
9. *Appunti sulla cariologia e sull' embriologia delle ' Inuleae '.* — « Nuovo Giornale Botanico Italiano », N. S., XL, fasc. 3 (1933). Con una tavola.

Di questi studî soltanto i primi due furono pubblicati, vivente l'autore; gli altri uscirono dopo la sua morte, per cura del prof. N. Beccari (3, 4, 5, 6, 8), del prof. G. Rossi (7) e del prof. G. Negri (9), rispettivamente direttori degli Istituti di Anatomia comparata, Fisiologia, Botanica della R. Università di Firenze, nei quali le ricerche furono eseguite.

In questa Raccolta non sono pubblicate le Note, 1, 4, 5, 6, che avevano semplicemente carattere di note preventive.

SULLA VETTA DEL MONTE AMIATA
UN MESE PRIMA DELLA MORTE

I.

RICERCHE DI ANATOMIA COMPARATA

DIFFERENZIAMENTO DEI SESSI E OVO-SPERMATOGENESI NELL'ANGUILLA.

RICERCHE ISTOLOGICHE E SPERIMENTALI.

SOMMARIO. — INTRODUZIONE — MATERIALE E TECNICA — I CORPI GENITALI NELLE CECHE: Dati bibliografici; Ricerche personali — DIFFERENZIAMENTO DEI SESSI NELLE ANGUILLE: Notizie storiche; Caratteri dei corpi genitali all'inizio della vita di anguilla; Inizio del differenziamento sessuale; Indice numerico dei protogoni nelle giovani anguille; Precoce incremento delle gonadi, precoce differenziamento di femmine ed ovogenesi giovanile; Processi di mascolinizzazione e definitivo differenziamento dei sessi; Quantità proporzionale dei sessi e sue differenze regionali; Femminizzazione tardiva di maschi argentini; Storia delle indagini sui problemi relativi al sesso con particolare riguardo ai Pesci teleostei. — L'OVOGENESI: Notizie bibliografiche; Archiovociti e loro moltiplicazione; Ovogoni, loro moltiplicazione e degenerazione; Ovociti prima dell'inizio dell'auxocitosi; Le diverse fasi dell'accrescimento; Inclusi citoplasmatici durante l'accrescimento; Ovogenesi abbreviata; Alcune notizie sui materiali di riserva dell'uovo di anguilla. — LA SPERMATOGENESI: Notizie storiche; Spermatogenesi normale; Spermatogenesi abortiva; Il tessuto interstiziale del testicolo di anguilla; Il probabile corredo cromosomico dell'anguilla. — TENTATIVI DI MATURAZIONE ARTIFICIALE DEI CORPI GENITALI DELL'ANGUILLA. — CONCLUSIONI GENERALI.

INTRODUZIONE.

Nella Storia naturale dell'anguilla sono da risolvere due problemi, che hanno appassionato gli Scienziati dall'antichità ai nostri giorni. Il primo è di ordine biologico: dove e in quali condizioni avviene la riproduzione. Il secondo di ordine fisio-anatomico: come e quando avviene il differenziamento dei sessi.

Quanto al primo problema è merito del REDI di avere per primo considerato le ceche come piccole anguille provenienti dal mare. Bisogna giungere ad un altro grande Naturalista italiano, al GRASSI, per la identificazione della larva di anguilla nel *Leptocephalus brevirostris* e per la osservazione che le anguille argentine sono anguille in abito di nozze. Supposto che le anguille si riproducono negli abissi marini dal rinvenimento di testicoli completamente maturi in un maschio pescato

in mare a grande profondità dallo SCHMIDT e constatato ripetutamente da vari autori che le anguille migranti al mare presentano nelle gonadi solo un inizio di ovo-spermatogenesi, venne consolidandosi il convincimento che la maturazione sessuale delle anguille potesse avvenire appunto nel mare a grande profondità. Volendo contribuire a chiarire questo primo punto, mi è sembrato che valesse la pena di saggiare sperimentalmente l'azione della pressione sul determinismo dei processi ovo-spermatogenetici.

Riguardo al secondo problema, in primo tempo si credette essere il sesso ben definito fin dai primordi dello sviluppo in tutte quante le anguille e si ricercò una presunta epoca del differenziamento sessuale; in un secondo tempo invece si notò che la differenziazione del sesso deve essere « labile e problematica » (MAZZA). Il GRASSI nei suoi classici studi sulle anguille, occupandosi di questo differenziamento, iniziò alcune ricerche di fina istologia ma, come egli stesso dichiara, non le condusse a termine; e pertanto mancò il contributo anatomico a chiarire numerose circostanze che l'esperimento e l'osservazione biologica aveva rivelato.

Tale ricerca istologica, suggeritami dal prof. Beccari, che con animo grato ringrazio, costituisce l'argomento fondamentale del lavoro.

Ho inoltre completato le ricerche con lo studio dell'ovo-spermatogenesi entro i limiti concessi dalle circostanze perchè, come è noto, nelle anguille che si riesce a catturare, i corpi genitali non sono mai maturi e pertanto nessun ricercatore è riuscito a studiare le divisioni maturative nè della linea genitale maschile nè di quella femminile.

MATERIALE E TECNICA.

Mi sono procurato anguille dai seguenti luoghi: mercato di Firenze, Rosano, Pontedera, Pisa, Maccarese, Castiglion della Pescaia. Ho anche osservato corpi genitali di altri Murenoidi in materiale fornito dalla Stazione Zoologica di Napoli.

Le ceche provenivano da Bocca d'Arno, Maccarese e Castiglion della Pescaia.

Tutte le ceche ed anguille raccolte (1262), per qualsiasi ricerche abbiano potuto servire, sono state misurate e pesate.

Ho generalmente fissato le ceche intere in liquido di Sanfelice; dopo qualche ora le ho suddivise in piccoli cilindri; qualche cilindro fu passato successivamente in Flemming. Lo stesso procedimento, che ha dato migliori risultati della diretta fissazione in Flemming, fu di regola seguìto anche per i corpi genitali delle anguille.

Ottimi risultati ha dato anche il fissativo « Susa » suggerito dal HEIDENHAIN.

Ho di regola eseguito sezioni di 7 μ che ho colorito a preferenza con ematossilina ferrica di Heidenhain ed Orange G.

Il materiale fissato in Flemming ha dato ottimi risultati con la colorazione tricromica di Flemming, seguendo le avvertenze del WINIWARTER.

Il fissaggio in « Susa » ha permesso di applicare con successo il metodo di colorazione Pianese.

Per la buona riuscita della colorazione Pianese anche con materiale fissato in Sanfelice, ho trattato le sezione sparaffinate per due-tre giorni con una soluzione satura acquosa di sublimato con l'aggiunta dell'1 % di acido acetico. Ho passato poi le fette in alcool a 70° iodo-iodurato, poi in alcool a 50° puro, poi in acqua distillata; quindi per cinque minuti in una soluzione al 0,2 % di solfito sodico e, dopo un lavaggio di venti minuti in acqua corrente, per dieci minuti nella soluzione colorante.

I CORPI GENITALI NELLE CECHE.

DATI BIBLIOGRAFICI.

È noto già da molto tempo che le ceche di montata hanno dimensioni diverse, e numerosi sono gli autori che si sono occupati di questa circostanza. Uno studio statistico accurato è stato eseguito dal GRASSI (1919), che è giunto alle seguenti conclusioni:

« 1) le ceche dell'Atlantico raggiungono una lunghezza media superiore a quella delle ceche del Mediterraneo; 2) la

lunghezza delle ceche in uguale stadio di sviluppo è massima nell'ottobre e nel novembre e diminuisce gradatamente nei mesi successivi; la differenza oscilla fra 5 e 6 mm.; 3) in certe annate la lunghezza media si mantiene nei vari mesi un po' inferiore a quella di altre annate; 4) i leptocefali brevirostri sono in febbraio e marzo più piccoli che nei mesi successivi; è verosimile che i leptocefali piccoli diventino ceche piccole e i grandi ceche grandi».

La forte differenza di lunghezza delle ceche fu interpetrata dal BELLINI (1906) come differenza sessuale. Secondo il Bellini, le ceche vanno classificate in tre gruppi:

I. Ceche da 56 a 61 mm. danno origina a una percentuale di ♂ del 99 %; assumono la divisa argentina dopo tre anni.

II. Ceche da 65 a 73 mm.: danno origine a ♀ con percentuale del 100 %; assumono la divisa argentina dopo quattro anni e mezzo; raggiungono una lunghezza da 55 a 66 cm.

III. Ceche da 78 a 84 mm.: danno origine a ♀ (100 %), assumono la divisa argentina dopo sei anni e mezzo; raggiungono una lunghezza dai 79 a 90 cm.

Questa tendenza alla determinazione precoce del sesso era provata dal Bellini solo mediante esperienze di allevamento e non per mezzo di ricerche istologiche sulla struttura del corpo genitale. SCHMIDT (1911 e 1913) e LÜBBERT (1911) si sono dimostrati contrari a questa ipotesi.[1]

Gli allevamenti iniziati dal GRASSI (1919) e continuati dal D'ANCONA (1924) dimostrano come le condizioni ambientali possono influire in modo da far giungere a risultati opposti a

---

[1] Un argomento di critica alla ipotesi del BELLINI sembrava esistere nel fatto, dallo stesso BELLINI notato, che il numero delle femmine, stando ai suoi criteri, avrebbe dovuto superare in proporzione fortissima quello dei maschi: su 16.000 ceche provenienti da Livorno, quelle sotto i 61 mm. erano appena il 13 %.

Ma il GRASSI fa osservare che, se si misuri per ciascun luogo un buon numero di ceche pescate ad intervalli fra novembre e aprile, e si considerino come futuri maschi quelle sotto i 65 mm. invece che sotto i 61 mm., le proporzioni fra i due sessi si equilibrano.

quelli del BELLINI : si può ottenere cioè, allevando ceche del III gruppo, una fortissima percentuale di maschi; GRASSI da questo fatto conclude che buona parte delle ceche superiori ai 65 mm. sono ancora indifferenziate.[1]

Pochi sono i dati anatomici e istologici che si hanno sui corpi genitali delle ceche.

Il GIACOMINI (1907) annunziò in una sua nota di aver intenzione di studiare i corpi genitali delle ceche e ce ne dette i primi risultati : cioè la presenza di accenni di lobatura nell'organo delle ceche più corte, e presenza di nastrino in anguilline di 15 mm. circa, derivate da ceche del III gruppo; ma ulteriori pubblicazioni del GIACOMINI su questo argomento non sono comparse. Mancavano al GIACOMINI dati sulle ceche da 7,8 a 8,4 mm.

Il GRASSI (1919) ha notato la presenza di una lieve lobatura nell'organo genitale delle ceche, non solo nelle piccole ma anche in quelle di 66-84 mm. ed ha disegnato sezioni trasverse dell'organo sia delle ceche che dei leptocefali. Dalle figure si vede come i corpi genitali del leptocefalo siano poco diversi da quelli della ceca.

Il MAZZA (1907) ha dato una breve descrizione delle cellule genitali : « Nelle ceche e nelle anguilline di 7-10-15 cm., le cellule germinative formano un nastrino continuo senza accumularsi più in un punto che in un altro.... Hanno nucleo ben distinto, un citoplasma assai granuloso, la macula germinativa non chiaramente visibile ».

Il D'ANCONA (1924) si è occupato della grandezza delle cellule genitali nelle anguilline, ma non nelle ceche; egli crede che la misurazione sia un mezzo per distinguere i protogoni e gli archiovogoni dagli ovociti : « In genere — egli dice — le cellule germinative che nella gonade indifferenziata hanno un diametro di 7-10 μ, si possono considerare in fase di accrescimento quando hanno superato questa misura ».

---

[1] L'allevamento fu cominciato dal GRASSI nel 1913 con 250 ceche, che nel 1916 erano già ridotte a 121 e nel 1918 a 60.

Considerando gli individui morti i cui corpi genitali poterono essere osservati, e quelli uccisi per verifica dal 1917 al 1923, si ebbero : ♀ n. 8. ♂ (fra argentini e gialli) n. 59.

RICERCHE PERSONALI.

Se i gruppi del Bellini corrispondono veramente a una differenziazione sessuale delle ceche, questo fatto, come già pensava il Giacomini, deve implicare una qualche differenza negli organi genitali dei tre gruppi di ceche. Mi sono quindi proposto di studiare l'estensione e la struttura degli organi genitali di una ceca sezionata completamente in serie, e di vedere come si comportano i corpi genitali sia dei tre gruppi del Bellini, sia delle forme ad essi intermedie, cioè di una serie di ceche ordinate tanto in relazione alla lunghezza quanto al peso. Gli autori che si sono occupati finora di ceche e di anguilline non hanno mai preso in considerazione il fattore peso.

Cresta genitale. — Se si pensa che le ceche devono avere circa un anno di vita (Grassi, 1919) si rimane colpiti dallo sviluppo arretrato che presentano i corpi genitali; questi meritano piuttosto il nome di creste genitali embrionali. In sezione trasversa di ceche e di anguille all'inizio dello sviluppo (Tav. I, fig. 1) la cresta appare come una piccola sporgenza claviforme peduncolata avvolta dall'epitelio peritoneale le cui due lamine riunite formano da sole il peduncolo. In ciascuna sezione appaiono da uno a sei protogoni.[1] L'aspetto dell'organo è identico a quello che si ha in altri animali, sia pesci che anfibi, in uno stadio di sviluppo embrionale di poco susseguente alla prima formazione della cresta genitale. Si può confrontare, per esempio, alla cresta genitale di *Salamandrina perspicillata* di quaranta giorni (Beccari, 1919), a quella del *Salmo irideus* a novanta giorni dalla fecondazione (Mrsic, 1923), o a quella infine del *Cottus bairdii* a venti giorni dalla fecondazione (Hann, 1927). Nell'anguilla lo sviluppo degli organi genitali procede con straordinaria lentezza, come già notava il Brock (1881). Questo fatto permette di seguire l'evolversi di questi organi con una precisione maggiore che in altri animali. Esa-

[1] Per la terminologia delle cellule genitali mi attengo al Beccari (1932).

minando una ceca sezionata completamente in serie, ho notato che l'estremità della cresta genitale che si spinge più cranialmente, cioè la destra, si trova circa al livello medio del fegato. L'altra cresta ha l'estremo craniale un po' più basso, a un millimetro circa di distanza; ambedue contengono protogoni fin dalla loro estremità craniale. La cresta che si spinge più cranialmente raggiunge, procedendo caudalmente, le massime dimensioni subito dopo il fegato, prima ancora che nelle sezioni appaia la milza; presenta poi per lungo tratto dimensioni all'incirca costanti. L'altra cresta, la sinistra, presenta la sua massima grandezza al livello della vescica natatoria; essa pure, per un lungo tratto, ha dimensioni poco variabili. Alla regione che si estende dalla milza e dall'estremo craniale del pancreas fino all' estremo diverticolo (in direzione caudale) dello stomaco, do il nome di *zona centrale*. In tutta la zona centrale le creste genitali di ciascun lato hanno dimensioni poco variabili per la distribuzione abbastanza uniforme dei protogoni. Per ciascuna cresta genitale il numero dei protogoni di cinquanta sezioni consecutive in qualsiasi punto della zona centrale è poco variabile, ma esistono spesso delle forti variazioni fra le due creste.

Caudalmente alla zona centrale le creste genitali si accompagnano fino all'estremo caudale dell'opistonefro che invade la regione della coda. Nella ceca sezionata in serie, questo è stato il reperto a sinistra; a destra la cresta si arresta mm. 0,7 più cranialmente. Il conteggio eseguito caudalmente alla zona centrale dà un numero sempre minore di protogoni; nella regione che fa seguito alla centrale (che può essere suddivisa in renale, anale, e post-anale) il numero delle cellule genitali di cinquanta sezioni è all'incirca la metà di quello della zona centrale.

Concludendo: l'estensione delle creste genitali nella ceca è pressappoco simile a quella del corpo genitale dell'adulto, salvo qualche piccola diversità. Nell'adulto infatti i corpi genitali si spingono caudalmente anche oltre l'estremo caudale del rene; ma può darsi che la minore estensione delle creste genitali della ceca da me esaminata sia soltanto una variazione individuale.

Lobatura della cresta genitale. — Se si esamina la disposizione dei protogoni nella cresta, si nota che ogni 40, 50, 60 μ essi appaiono più numerosi con un ritmo abbastanza costante. Tale disposizione si ritrova nelle creste genitali di molti embrioni anche in altri Vertebrati. È stato notato, ad esempio, nel *Bufo viridis* dal BECCARI (1924). Oltre alle oscillazioni numeriche, che nelle ceche non erano state descritte,[1] si osservano nella cresta genitale brevi strozzature che si susseguono ogni 0,4-0,5 mm. circa più o meno accentuate secondo gli individui.

In corrispondenza delle strozzature mancano quasi del tutto i protogoni. Estensione e distanza fra loro delle strozzature sono soggette a molte variazioni. Le strozzature danno alla cresta genitale di alcune ceche un aspetto lobato, già segnalato dal GIACOMINI e dal GRASSI, che è tipico, come si vedrà a p. 25, del corpo genitale delle anguille sessualmente non differenziate, al quale in questo stadio si dà comunemente il nome di organo del Syrski.

Durante buona parte della vita larvale è possibile che manchino gli accenni di strozzatura lungo la cresta ed esistano solo le ritmiche piccole oscillazioni nel numero dei protogoni.

Concludendo: le lobature, caratteristiche dell'organo di Syrski, già presenti nel corpo centrale di molte ceche, deriverebbero da un accentuarsi della primitiva disposizione alternata di gruppi di protogoni, propria degli embrioni anche di altre specie di Vertebrati.

Mancanza del corpo genitale accessorio. — Esempio unico nei Vertebrati, l'anguilla presenta nella regione renale due corpi genitali per lato. La lunghezza dell'organo accessorio è variabilissima. Poco si sa sulla origine di questo organo accessorio. L'ipotesi che si tratti di una ripiegatura dell'organo principale non è ammissibile, secondo il BROCK (1881), per il fatto che i lati vascolare e germinativo della cresta genitale

---

[1] MAZZA (1907) asserisce: « Nelle ceche e nelle anguilline di 7, 10, 12 cm. le cellule germinative formano un nastrino continuo senza accumularsi più in un punto che in un altro ».

hanno il medesimo orientamento nel corpo genitale principale ed in quello secondario.

Ho cercato se vi fosse un accenno di formazione di una cresta secondaria nella regione post-anale delle ceche; ma non ne ho trovata alcuna traccia. La formazione del corpo genitale secondario è evidentemente un fatto tardivo. Notevole è però il fatto che, nella parete peritoneale della regione dove apparirà il corpo genitale secondario, esista un profondo solco in cui si annida la piccola cresta genitale; il solco è però esterno rispetto alla cresta, mentre la gonade secondaria, quando esiste, è interna rispetto alla primaria.

Il solco è presente anche in anguilline di 9 cm. In esse, medialmente alla cresta principale, l'epitelio peritoneale si presenta a volte ipertrofizzato, cubico (Tav. I, fig. 2), con cariocinesi. Può nascere il dubbio che ivi prenda origine la cresta secondaria, ma non ho studiato la cosa. Il corpo genitale secondario dell'adulto non differisce dal principale che per la lunghezza.[1]

Caratteri strutturali dei protogoni. — Le cellule protogoniali delle ceche sono relativamente grosse rispetto alle cellule somatiche (Tav. I, fig. 1). Hanno citoplasma più o meno abbondante, chiaro, nucleo rotondo o leggermente ovalare (Tavola I, fig. 3), mai lobato o inciso come di solito nei protogoni di altri pesci o di anfibi. Il nucleo contiene poca cromatina granuliforme polverulenta; il fissaggio Susa o altri liquidi a base di sublimato e a volte di Flemming, quando si colorino le sezioni con la tricromica di Flemming, mettono in evidenza una trama reticolo-filamentosa acromatica su cui poggiano i granuli cromatici. Il nucleo è sempre unico, rotondeggiante, a volte eccentrico, lievemente basofilo.

---

[1] Brock dice: « La parte accessoria può essere in un grado di sviluppo minore delle parti principali, se questo sia anche dal punto di vista istologico non lo ho potuto verificare, ma poichè la parte accessoria è ridotta ad un'esile striscia mentre la principale è già lobata, lo ritengo verosimile ».

Posso aggiungere che ho istologicamente esaminato la gonade accessoria di anguille adulte e che l'ho trovata conformata come quella principale: caso mai esiste rispetto a questa un certo ritardo nel ciclo evolutivo degli elementi genitali.

Nel citoplasma di quasi tutti i protogoni si osserva (Tav. I, fig. 3) un certo numero di granuli di 2 o 3 μ di diametro, quasi sempre sferici o lievemente ellittici in numero di 4-6 e più per cellula. Questi granuli sono di solito fortemente siderofili, molto più del nucleolo; solo raramente avviene l'inverso forse per la sola diversità dell'azione del fissativo.

I granuli sono disposti attorno alla membrana nucleare, raramente distanti, di solito ad essa aderenti; sono però sempre esterni al nucleo.

Se il procedimento del fissaggio o della colorazione non è stato buono, è possibile scambiare i granuli per nucleoli, poichè non si vedono ben netti i limiti del nucleo.[1]

Espongo nella seguente tabella le proprietà tintoriali dei granuli siderofili confrontate con quelle del nucleolo.

FISSAGGIO	COLORAZIONE	GRANULI	NUCLEOLO
SANFELICE	Emat-ferrica di Heidenhain	(Mx) fortemente siderofili	(Mx) meno siderofilo
		(Mn) poco siderofili	(Mn) molto siderofilo
—	—	—	—
SANFELICE FLEMMING	Tricromica di Flemming	rosso (safraninofili)	rosso violaceo
—	—	—	—
SUSA	Pianese	rosso o rosso bluastro	verde o rosso bluastro
—	—	—	—
SUSA	Emallume eosina	rosso	blu chiaro

Risulta evidente che se l'aspetto morfologico dei granuli è simile a quello dei nucleoli, non lo sono invece le loro proprietà tintoriali.[2]

Granuli di questo tipo sono stati descritti frequentemente nelle cellule genitali di Pesci e di Anfibi, sia nei protogoni

[1] Il MAZZA (1907) descrivendo le cellule genitali di anguilline dai 19-25 cm., dice « Alcune cellule presentano dei grossi nuclei ricchi di granuli cromatici usurpanti (!) gran parte di citoplasma ». Non saprei decidere se si tratti delle formazioni che ho descritto.

[2] Lo CHAMPY (1913) ammette che granuli simili osservati negli Anfibi (*Hyla*) siano identici per forma e reazioni microchimica ai nucleoli e che provengano dai nucleoli; perciò li chiama : « corpi pirenoidi ».

che negli ovogoni e spermatogoni. Ad esempio, nei maschi di perca le cellule genitali sono raccolte in maggio in una specie di cordone fuori del testicolo e presentano un corpo poco colorabile senza alcun incluso citoplasmatico. Più tardi esse si spostano verso quella parte del testicolo dove avverrà la spermatogenesi.

Compaiono allora nel loro interno e, compiuta la migrazione, aumentano di volume, alcune sferule intensamente colorabili che molto assomigliano ai granuli da me veduti nell'anguilla.[1]

Turner (1919) ammette che questi granuli siano parti di nucleo che, perforata la membrana nucleare, migrano nel citoplasma delle cellule genitali e crede che avvenga un aumento di numero ogni volta che l'anabolismo cellulare è predominante. I granuli sarebbero materiali di riserva che verrebbero consumati nei momenti di forte attività cellulare, cioè quando si susseguono attive divisioni.

Io non credo all'origine nucleare dei granuli siderofili. Nelle cellule genitali di anguilla sono sempre esterni alla membrana nucleare.

Secondo me, essi diminuiscono durante i periodi di attiva divisione, non perchè vengano consumati, ma perchè nelle cariocinesi si distribuiscono, senza un preventivo aumento di numero, alle due cellule figlie.

Ecco il comportamento di questi inclusi nelle cellule protogoniali delle ceche :

1) Sono presenti in tutti gli individui, ma in numero molto variabile.

2) Vi sono individui in cui tutti i protogoni hanno granuli abbondanti ed altri in cui tutti i protogoni ne hanno pochi.

---

[1] Anche L'Okkelberg (1921) nel citoplasma dei protogoni di *Entosphoenus wilderi* descrive un nucleo vitellino della King che dalle figure e dalla descrizione appare identico a un grosso corpo siderofilo.

Hermann (1880) nel citoplasma degli elementi sessuali di Selaci descrive un corpo di ugual natura che chiama : « corpo cromatoide ».

La King (1907) chiama « acroblasto » la medesima formazione nei protogoni di *Bufo lentiginosus*.

Janssen (1901) nel tritone trova nel citoplasma dei protogoni numerosi granuli cromatici.

3) Le creste in cui abbondano cellule in degenerazione sono quelle a protogoni più ricchi di granuli.

4) Nei protogoni in degenerazione i granuli diventano più numerosi e più intensamente colorabili.

5) Le piccole cellule protogoniali derivate dalle divisioni dei protogoni primarii hanno minore numero di granuli.

6) Durante le divisioni cariocinetiche (nelle anguilline) i granuli si dispongono alla periferia del fuso e si distribuiscono uniformemente alle due cellule figlie.

Da tutto ciò trarrei la conclusione che la presenza di abbondanti granuli è un fenomeno da mettere in relazione, non tanto col semplice metabolismo delle cellule genitali, quanto col metabolismo dell'intera cresta od organo genitale, e quindi con quello dell'intero individuo; sono cioè, secondo me, l'espressione di un fatto generale più che locale il cui intimo significato per ora non risulta chiarito.

I protogoni si trovano sempre dentro la cresta genitale; in uno o due casi solamente ho trovato cellule identiche ai protogoni extragenitali (Tav. I, fig. 1).

Negli embrioni di Vertebrati inferiori sono state spesso descritte cellule genitali fuori dell'area e della cresta genitale. Ad esempio: in *Salamandrina* sono state vedute cellule ectopiche dorsalmente e medialmente al canale di Wolf, che persisterebbero al massimo fino al quinto periodo di sviluppo (Beccari, 1921).

Il corpo genitale di una *Salamandrina* del quinto periodo di sviluppo è molto più avanzato della cresta di una ceca, che corrisponde, al massimo, a un corpo genitale di *Salamandrina* del secondo o terzo stadio.

Cellule avvolenti e stromatiche. — Ciascuna cellula protogoniale è parzialmente circondata da cellule che gli Autori hanno in vario modo denominato e che io chiamo avvolgenti.

Cellule siffatte sono state osservate nelle creste genitali di molti pesci e assai si è discusso sulla loro origine.

Quasi certamente esse corrispondono alle cellule follicolari dei protogoni degli Anfibi (Beccari, 1932).

Scorrendo la letteratura su questo argomento, limitatamente ai Pesci, troviamo che già il BALBIANI (1819) ammette la presenza di un follicolo epiteliale che avvolge l' « *Huhr-Ei* ».

BROCK (1881) nega l'esistenza di qualsiasi epitelio follicolare attorno alle cellule genitali negli abbozzi testicolari dei Teleostei.

L'HOFMANN (1886) asserisce che nelle creste genitali di avanotti di *Salmo fario* le cellule sono aggruppate in nidi ravvolti da cellule follicolari, e propende per una natura connettivale di queste cellule.

LOEWE (1903) crede che le cellule follicolari derivino dall'epitelio celomatico.

BÖHI (1904) vede tutte le cellule della cresta derivare dall'epitelio celomatico. Secondo l'OKKELBERG (1921), esisterebbero cellule stromatiche e cellule follicolari; tutte e due deriverebbero da cellule peritoneali emigrate ed in minor parte dal mesenchima. Il MRSIC (1923) chiama cellule stromatiche quelle derivate per divisione dalle primitive cellule di derivazione peritoneale che attorniano le cellule germinali, benchè nei Teleostei non esista un vero stroma dell'abbozzo genitale.

LO HANN (1927) nel *Cottus bairdii* descrive le pieghe genitali di un embrione di 36 giorni, composte da cellule peritoneali di rivestimento, cellule genitali, cellule dello stroma e cellule follicolari. Le cellule stromatiche deriverebbero dalle cellule peritoneali. Esse dovrebbero penetrare nella gonade dal margine dorsale, ma non contemporaneamente alle cellule germinali. Le follicolari in parte già si trovavano attorno alle germinali quando queste emigrarono nella cresta, in parte si formano *ex novo* dalle peritoneali e dalle stromatiche.

Che cellule dei tessuti vicini possano in un embrione penetrare nella cresta genitale è cosa ritenuta probabile in tutti i Vertebrati; però il problema della origine delle cellule avvolgenti o follicolari dei protogoni appare ancora non completamente delucidato, nè io sono riuscito a riconoscere nelle ceche nuovi fatti che autorizzino ad esprimere in proposito un sicuro giudizio.

Nelle ceche non è possibile distinguere, come nell'embrione di *Cottus*, cellule avvolgenti da cellule stromatiche; tutte le

cellule somatiche nell'interno della gonade sono di un unico tipo (Tav. I, fig. 1).

Le cellule avvolgenti delle ceche sono state disegnate dal Grassi (1919), ma non descritte nel testo.

Esse assomigliano un po' a cellule stellate, connettivali; diversificano fortemente, sia per forma che per grandezza, dalle cellule dell'epitelio; hanno una forma laminare a contorno variabile (Tav. I, fig. 4); il nucleo è elissoidale, inciso e strozzato una o più volte, con poca cromatina; il citoplasma è piuttosto scuro ed a volte sembra striato nel senso della maggiore lunghezza della cellula.

Epitelio della cresta genitale. — È formato da piccole cellule a nucleo fusiforme allungato nel senso longitudinale della cresta. Per l'aumento in numero e in volume delle cellule protogoniali, le cellule epiteliali vengono spesso stirate e a volte viene interrotta la continuità dell'epitelio, mentre i protogoni si fanno liberamente sporgenti nella cavità celomatica. Questo è un fatto comune nelle creste genitali degli Anfibi e può anche portare alla caduta di protogoni nella cavità celomatica. La caduta dei protogoni può avvenire prima della costituzione della cresta genitale. « Sembra quasi — dice il Beccari (1921) — che nel costituirsi della cavità peritoneale, le due lamine, somatica e viscerale, distaccandosi, lascino libere quelle cellule genitali che non vengono a trovarsi nel momento del distacco impigliate fra gli elementi pleurogenitali, a spese dei quali si costituirà gran parte del primitivo abbozzo ghiandolare ». Pertanto il fatto che i protogoni tendono a sporgere dal lato interno della cresta sembra derivare da semplici azioni meccaniche.

Le cellule epiteliali hanno nuclei molto piccoli, circolari in sezione trasversa, quasi tutti di uguali dimensioni, senza nessun accenno a presunte forme di passaggio a cellule genitali. Ho varie volte osservato cellule somatiche della cresta genitale delle ceche, sia epiteliali che stromatiche e avvolgenti, in divisione cariocinetica.

Degenerazioni protogoniali durante la vita di ceca. — Nelle creste genitali di ceche di diversa provenienza e di varie dimen-

sioni ho notato fenomeni degenerativi, a volte anche molto accentuati. Da quello che dirò in seguito, a proposito dell'ulteriore evoluzione del corpo genitale, si vedrà la straordinaria facilità con cui, in tutte le epoche e in tutti gli stadi, fenomeni simili possono avvenire, ed emergerà la loro importanza per la determinazione finale del sesso.

Io credo che la varia intensità di questi fenomeni stia in rapporto, fra l'altro, col diverso ritmo di accrescimento nelle varie epoche di sviluppo delle anguille, e forse con le condizioni ambientali che esercitano la loro azione sull'uno e l'altro.

Circa il diverso ritmo di accrescimento, un mio studio statistico mostra che la curva peso-lunghezza dell'accrescimento dell'anguilla non è continua, ma risulta formata di due branche di parabola di terzo ordine, le quali differiscono fra loro per il coefficiente.[1]

Posso affermare che mai nelle ceche da me istologicamente esaminate, anche totalmente sezionate in serie, ho rinvenuto cariocinesi protogoniale.

Io sarei portato a spiegare questo arresto moltiplicativo delle cellule genitali con il disagio cui va incontro la ceca in questo periodo di sviluppo, sia per l'eccessivo lavoro che per la deficienza di alimento. Un *deficit* energetico maggiore, oltre l'arresto di moltiplicazione protogoniale, darebbe successivamente degenerazione di protogoni e a volte anche di cellule epiteliali e avvolgenti.

Tuttavia potrebbe anche darsi che l'arresto di divisioni protogoniali in un determinato periodo dello sviluppo dipendesse da altre cause, perchè è stato descritto come fatto normale durante lo sviluppo embriologico di molti altri Vertebrati. Ricorderò, ad esempio, che nella *Salamandrina perspicillata* durante due interi periodi di sviluppo non è stata osservata alcuna divisione protogoniale (Beccari, 1921), e che, anche in un pesce teleosteo, nel *Cymatogaster* (Eigenmann, 1896) è stato riscontrato un fatto dello stesso genere.

---

[1] Questo studio statistico fu comunicato dopo la morte dell'autore dal prof. Nello Beccari alla Società di Biologia Sperimentale (Rodolico, 1932, 2) ed è pubblicato a pag. 119 di questa raccolta.

Indice numerico dei protogoni nelle ceche. — Consideriamo cinquanta sezioni consecutive di 7 μ di spessore e contiamo il numero delle cellule genitali. Le sezioni devono essere della zona centrale e scelte in modo da non corrispondere a quei punti privi di cellule genitali che daranno origine alle incisure dell'organo di Syrski.

Il conteggio ci dà un numero quasi costante per tutta la zona centrale di ciascuna cresta. Questo numero è circa il doppio di quello che si ottiene dai conteggi nella zona sottostante.

Nell'impossibilità di eseguire conteggi di tutte le cellule genitali di ciascun individuo, del tipo dei conteggi eseguiti ad esempio dall'EIGENMAN (1896) in *Cymatogaster*; dal BÖHI (1904) in vari *Salmonidi*; dal BECCARI (1921) in *Salamandrina* e *Bufo*; dal HANN (1927) in *Cottus,* ecc., ho cercato di contare in un certo numero di ceche i protogoni contenuti in cinquanta sezioni della regione centrale delle creste. La cifra che io ottengo, che potremo chiamare indice numerico, ha solo un valore relativo, sia per gli errori sperimentali dovuti a probabili diversità di spessezza delle sezioni, sia per il fatto che l'indice, pur essendo proporzionale al numero dei protogoni dell'individuo, non può dare il valore assoluto dell'incremento numerico dei protogoni posseduti complessivamente dall'individuo.

Benchè l'indice abbia, ripeto, solo un valore di approssimazione, esso, come si vedrà in seguito, ha grande importanza nello studio delle anguille dai 9 ai 15 cm., permettendo la prima identificazione di una differenza sessuale.

Nelle ceche ho ricercato l'indice in esemplari appartenenti a tutti i gruppi del BELLINI e ho notato quanto segue:

Esistono forti variazioni individuali indipendentemente dalla lunghezza dell' animale ed anche, a volte, fra le due creste; queste ultime variazioni esistono solo nelle ceche e sono rare.

Fatta astrazione da queste variazioni, l'indice ha un andamento quasi costante. Nel diagramma (Fig. 2, pag. 33) ove sono registrati gli indici numerici delle ceche e delle anguille durante il loro sviluppo, la curva, fin tanto che si tratta di ceche, cioè fino a 8-9 cm., è circa parallela all'ascissa.

Mentre l'indice ha un andamento quasi costante nelle ceche di varia lunghezza, la cresta genitale invece è più estesa nelle ceche più lunghe. Ne consegue che le ceche maggiori devono avere un numero di protogoni più elevato delle minori. E perchè nello stadio di ceca i protogoni non si dividono, ne deriva che la differenza numerica dei protogoni nelle ceche è dovuta a una differenza che già esisteva allo stadio di leptocefalo o durante la metamorfosi.

Questa constatazione, che esistono cioè ceche, e forse anche leptocefali, con più cellule genitali di altri, coincide con quanto vari altri autori hanno trovato sia in Pesci che in Anfibi. EIGENMANN (1896) in *Cymatogaster* trovò forti differenze numeriche individuali nelle cellule genitali di tutti gli stadi; MRSIC (1923) trovò lo stesso fenomeno in *Salmo irideus* e HANN (1927) nel *Cottus bairdii*. Nel *Cottus* le differenze sono fortissime : vi sono embrioni con una sola cellula genitale, ed è probabile che ve ne siano alcuni completamente sterili. Sulla base del numero delle cellule germinali, dice lo HANN, gli embrioni, in un determinato stadio, possono essere divisi in due gruppi, uno da 12 a 22 cellule germinali, e uno da 49 a 80.

Differenze individuali nel numero delle cellule genitali sono state infine osservate dal BECCARI anche nelle larve degli Anfibi : in *Salamandrina perspicillata* e in *Bufo viridis* (1921-25).

Variazioni nelle dimensioni nucleari dei protogoni. — Mancano osservazioni di questo genere nei leptocefali, ma noi possiamo ritenere verosimile che nei leptocefali maggiori, più sviluppati, i quali daranno origine, come sembra, alle ceche lunghe, la metamorfosi sopraggiunga quando è avvenuto un numero maggiore di divisioni protogoniali che in quelli più piccoli.

Le cellule, o meglio i nuclei, che sono usciti da poco dalla cariocinesi, sono molto più piccoli di quelli che non si sono divisi o si sono divisi molto tempo prima. Ne segue che all'inizio della metamorfosi le cellule piccole dovranno essere molto più abbondanti nelle creste dei leptocefali più lunghi, in cui le divisioni sono state più frequenti che in quelle dei più corti. In questi saranno invece più abbondanti i protogoni di dimensioni

maggiori che non si sono divisi o la cui divisione è avvenuta molto tempo prima.

Nelle ceche, come abbiamo detto, il quadro cellulare (rispetto ai protogoni) che si aveva nei leptocefali, deve rimanere inalterato per lungo tempo; se quindi nelle ceche lunghe troveremo maggiore abbondanza di cellule piccole e nelle ceche corte maggiore abbondanza di cellule grandi, ci saremo procurati una prova della veridicità della ipotesi dalla quale testè siamo partiti.

Ho disegnato con la camera lucida alla scala 1 mm. = 1,1 μ un centinaio di cellule genitali prese da sezioni consecutive in undici ceche delle varie lunghezze. I contorni citoplasmatici sono i più difficili a studiare in sezioni di 7 μ e non li ho presi in considerazione. Ho studiato invece i contorni nucleari, più piccoli, è vero, ma più netti e più facili a seguire nelle sezioni consecutive.

I nuclei sono leggermente ovali, a volte completamente rotondi. Ho misurato il diametro massimo del nucleo di ciascuna cellula disegnata. Nelle cellule genitali che non presentino segni di anormalità, il diametro massimo del nucleo varia, in ceche di qualsiasi lunghezza, da 5,5 a 8,8 μ.

Si noti che le cellule a nucleo più piccolo (5,5 e 6,6 μ) sono quelle più frequentemente aggruppate a nidi di due e che danno l'impressione di essere derivate dalle divisioni delle più grosse a nucleo di 7,7 e 8,8 μ. Le cellule con nucleo di 8,8 μ sarebbero i protogoni primordiali che possono aver subìto qualche divisione, ma molto lontana dal momento della metamorfosi. Ritengo che anche le cellule con nucleo di 7,7 μ siano il prodotto di una divisione protogoniale, ma anche essa avvenuta in epoca assai lontana.

Le cellule con nucleo da 5,5 a 6,6 μ devono essere quelle cellule che si sono divise poco tempo prima della metamorfosi e non hanno avuto ancora il tempo di riassumere le dimensioni originarie per l'intervento del periodo di stasi durante la vita di ceca.

Nelle due seguenti tabelle riporto per sette ceche e quattro anguilline le percentuali dei nuclei dei protogoni a seconda delle diverse dimensioni.

CECHE

Lunghezza in cm.	Peso in mg.	Cellule degenerate	Diametro dei protogoni in μ					
			3,3	4,4	5,5	6,6	7,7	8,8
5,7	112				31,8%	34,1%	34,1%	
6,3	194		4,6%		51,5%	34,3%	9,3%	
6,4	200		3,7%		70 %	20 %	6,2¼	
6,5	200		5,9%		32,8%	44,7%	16,4%	
7	249	3 %	2, %	17, %	50 %	24 %	4 %	
7,5	262	1,6%	11,2%		62,4%	22,4%	2,4%	
8					47,5%	50 %	2,5%	

ANGUILLINE

Lunghezza in cm.	Peso in mg.	Diametro dei protogoni in μ				
		4,4	5,5	6,6	7,7	8,8
9	710	11 %	11,7%	32,5%	11,7%	3,9%
9,2	809	3 %	30 %	47 %	18 %	2 %
11,4	1405	8,5%	25,5%	44,7%	21,3%	
13	2060	18,4%	32,3%	45,5%	14,7%	

Se consideriamo ora, nelle ceche delle varie lunghezze, l'andamento delle percentuali, da una parte delle cellule a nucleo di 7,7 e di 8,8 μ e dall'altra delle cellule a nucleo di 5,5 e 6,6 μ, vediamo, come chiaramente dimostra la rappresentazione grafica (fig. 1), che con il progredire delle lunghezze la percentuale dei nuclei di dimensioni maggiori diminuisce rapidamente, mentre aumenta quella dei nuclei di dimensioni minori, ciò che perfettamente concorda con l'ipotesi che le ceche lunghe, provenienti dai leptocefali maggiori, posseggano un maggior numero di cellule genitali le quali derivano da moltiplicazioni protogoniali nell'ultimo periodo della vita di leptocefalo.

Anche la regione renale o post-anale della cresta genitale che rimane più addietro nello sviluppo, presenta nelle ceche lunghe una percentuale leggermente più elevata di cellule a nuclei grandi.

Differenze di grandezza delle cellule genitali interpetrate come conseguenza di forte moltiplicazione, sono state vedute

dallo HANN (1927) negli embrioni di trenta giorni di *Cottus bairdii*. MASCHKOWZEFF (1924) dice che negli abbozzi dei corpi genitali di *Acipenser stellatum* vi sono due specie di cellule genitali: le grandi e piccole. Egli crede che le cellule grandi siano femminili e le piccole maschili. Si avrebbe così un ermafroditismo embrionale. Io credo piuttosto che si tratti di differenze dovute al fatto che le grandi non si sono ancora divise.

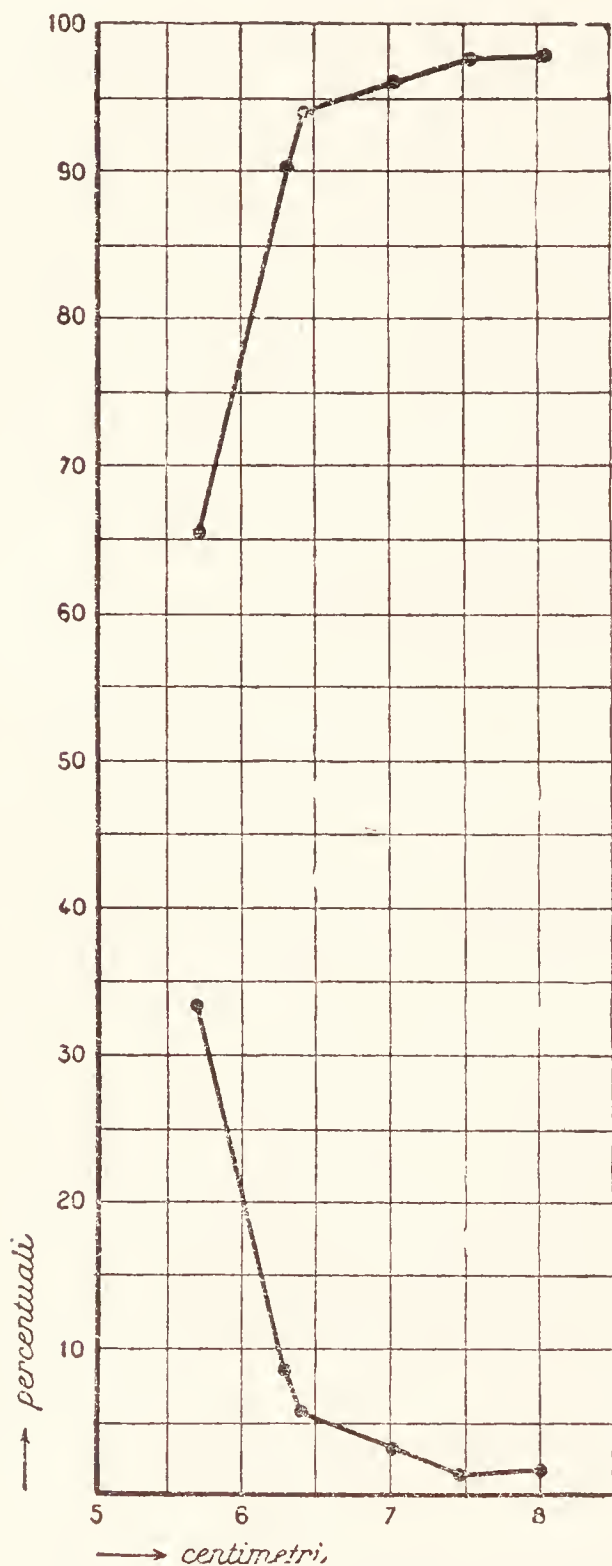



Fig. 1. — Percentuale dei grandi protogoni (in basso) e dei piccoli (in alto) in rapporto alla lunghezza delle ceche.

Piccole cellule genitali, teoria di Waldeyer, e degenerazioni cellulari. — Quando ho detto che le dimensioni del nucleo variano fra 5,5 e 8,8 μ, ho tralasciato i valori desunti dall'esame di un piccolo numero di cellule, presenti solo in alcune ceche, i cui nuclei scendono a dimensioni ancora più piccole: 4,4 μ ed anche più raramente, come minima assoluta, 3,3 μ.

Il BROCK (1881) ritenne che esistessero nell' anguilla circostanze tipiche in appoggio della ben nota teoria del WALDEYER, secondo la quale le cellule genitali potrebbero derivare da cellule somatiche: nell'epitelio germinativo vede tutti i passaggi dalla cellula peritoneale alla cellula germinale. il BROCK non dà le dimensioni delle anguille nei cui corpi genitali vede i fatti ora accennati, ma da quello che si può arguire dalle figure, doveva trattarsi di anguilline di 15 a 18 cm. circa. Il BROCK non vide alcuna traccia di organo genitale nelle ceche,

ed ammise che questa presunta mancanza di cellule genitali nelle ceche fosse un valido argomento per ammettere l'origine tardiva delle cellule genitali dell'epitelio peritoneale. Come dirò in un capitolo successivo, quando mi occuperò delle anguille, le immagini vedute dal BROCK vanno interpretate, secondo me, in ben altra maniera.

Le cellule genitali delle anguille, come risulta dalle mie ricerche, possono essere seguite, risalendo alla loro origine, fino ai protogoni delle ceche. Orbene, anche nelle ceche io vedo, oltre alle cellule genitali piccole, cellule con i caratteri morfologici delle genitali, di dimensioni ancora minori, che assomigliano alle cellule interpretate dal BROCK come forme di passaggio; esse sono precisamente le cellule con nuclei di diametro 4,4 μ.

Non in tutte le ceche esaminate trovo queste più piccole cellule germinali e neanche sono esse caratteristiche di ceche di una determinata dimensione. Le ceche che posseggono il maggior numero di cellule germinali minime, sono quelle che presentano le maggiori percentuali di cellule degenerate (vedi Tabella a pag. 21).

Le cellule genitali più piccole hanno di solito carioplasma più o meno torbo, e si ricollegano per gradi alle cellule genitali degenerate (Tav. I, fig. 5).

Possono qualche volta presentare lo stesso aspetto anche cellule avvolgenti all'inizio di fenomeni degenerativi.

Non si trovano mai sporgenti dall'epitelio di rivestimento della cresta, ma piuttosto nel suo interno, generalmente in nidi, come schiacciate fra due o tre cellule protogoniali maggiori.

Poichè durante lo stadio di ceca non avviene aumento numerico di protogoni, non vedrei la ragione di ricercare, in queste più piccole cellule genitali, forme di passaggio. E neppure vedo la necessità di ammettere forme di passaggio più tardi, quando negli stadi successivi il numero dei protogoni aumenterà notevolmente, poichè allora con molta frequenza sarà possibile osservare cariocinesi protogoniali.

Esistono differenze sessuali nelle ceche? — Dice il D'ANCONA (1924): «È verosimile che gli esemplari di ceche più grandi di 65 mm. comprendano un certo numero di ♀ già differenziate e un certo numero di individui intermedi (tipo erma-

froditi di Pflüger) per sesso e lunghezza.... forse facendo altri allevamenti, separando le ceche secondo la loro lunghezza, si potrebbe isolare un gruppo di ceche corte destinate a diventare tutte ♂, un gruppo di ceche molto più lunghe tutte sempre ♀, e un gruppo di ceche intermedie in cui il sesso può essere diversamente determinato, variando le condizioni ambientali ».

Orbene, dall'esame istologico delle creste genitali delle ceche, è risultato, come si è visto, che nelle ceche più lunghe, oltre un maggior numero globale di protogoni, dipendente dalla maggiore estensione della cresta, esiste una percentuale maggiore di protogoni piccoli.

Può questa differenza rispetto alle ceche corte essere interpretata come esponente di differenza sessuale ?

Il maggior numero globale di protogoni sembrerebbe dipendere solamente da una maggiore lunghezza della cresta genitale. Ma come si vedrà, nelle anguilline tra 9 e 15 cm. di lunghezza, nelle quali ricomincia la moltiplicazione protogoniale, ho constatato forti differenze individuali dell'indice numerico dei protogoni ed ho raccolto elementi che mi hanno indotto a ritenere l'aumento assoluto del numero dei protogoni in un individuo come indizio di differenziazione femminile.

Nelle ceche lunghe la forte percentuale di protogoni piccoli, che io ho interpretato come anticipo di moltiplicazione protogoniale avvenuta allo stato di leptocefalo, potrebbe essere un indizio di questa tendenza ad acquistare precocemente un numero elevato di cellule genitali, e però riterrei verosimile che effettivamente le ceche lunghe fossero già incamminate verso il sesso femminile.

L'elevata percentuale di protogoni piccoli e il numero globale maggiore di protogoni nelle ceche lunghe potrebbero essere fattori che, nella lunga indeterminatezza sessuale della anguilla, fanno già prevalere l'organismo verso la femminilità. Insisto nel fatto che stimo questi fenomeni, non come indice di differenziazione, ma come fattori di sessualità : fattori che, trovando concomitante un *habitat* ove temperatura e nutrimento siano favorevoli, farebbero prevalere il sesso femminile, ma che, incontrando invece avverse condizioni ambientali, perderebbero ogni valore determinante. Così si spiegherebbero i risultati del tutto opposti ottenuti dal Grassi e dal Bellini.

Se si pensa alla facilità con la quale i protogoni delle ceche degenerano, è chiaro che basta l'azione anche poco prolungata di un ambiente sfavorevole per ricondurre il numero delle cellule genitali delle ceche più lunghe ancor più in basso di quello degli individui più corti. Viceversa, un ambiente favorevole, stimolante il rapido accrescersi e le divisioni cellulari dei protogoni, dovrebbe, ma non è ancora provato, portare ad un aumento della percentuale delle femmine nelle ceche del primo gruppo.

Credo azzardato affermare che anche le ceche più lunghe che si conoscono (quelle di 8,4 mm.) siano già stabilmente differenziate in femmine; in esse esiste solo una maggiore probabilità di divenire stabilmente femmine.

IL DIFFERENZIAMENTO SESSUALE NELLE ANGUILLE.

NOTIZIE STORICHE.

I corpi genitali delle anguille rimasero lungamente sconosciuti dai tempi di Aristotile a quelli dei grandi Naturalisti italiani del '700.

La prima descrizione dell'ovaia dell'anguilla si deve al VALLISNERI che la riconobbe in un capitone di Comacchio.

L'apparente mancanza di un testicolo, sicuramente riconoscibile, era interpretata da alcuni come prova dell'ermafroditismo delle anguille; altri attribuivano valore di testicolo alla vescica natatoria.

SYRSKI (1873) scopriva nelle anguille fra i 21 e i 42 cm. un organo lobato, mentre in quelle più grandi da 27 cm. ad 1 metro notava la presenza di un'ovaia tipica.

Il SYRSKI considerò l'organo lobato come un testicolo non ancora maturo. Il FREUD (1877) esaminò circa 400 anguille dai 20 ai 61 cm.: egli vide che nelle anguille più piccole gli « organi del Syrski » e i giovani ovari erano così poco dissimili fra loro da non permettergli di escludere senz'altro che l'organo lobato potesse essere un ovario modificato, ma gli sembrò più verosimile considerare quest'organo un testicolo. Il FREUD comprese per primo che l'unico mezzo per stabilire il sesso di una anguilla piuttosto giovane, era la ricerca istologica. Il primo

studio istologico veramente accurato è quello del BROCK (1881). L'autore cercò di seguire lo sviluppo del testicolo e dell'ovaia dalle anguille lunghe circa 18 cm.[1] ai maschi argentini e ai grossi capitoni. Il BROCK credeva che la presenza del canale deferente potesse essere segno indiscutibile del sesso mascolino e che l'organo lobato fosse sicuramente un testicolo. Nel lavoro del LEPORI (1883) sono invece idee affatto opposte. L'organo del Syrski non sarebbe soltanto un testicolo, ma anche un'ovaia in via di sviluppo, destinata, per fusione dei lobi, a dare origine al nastro ovarico delle femmine adulte. Il MAZZA (1909 e 1913) ha il merito di avere dimostrata giusta la supposizione del LEPORI.

Il MAZZA ha dimostrato anche che ha poca importanza la forma esterna dell'organo per stabilire il sesso dell'individuo; trovò, infatti, organi nastriformi con struttura testicolare ed organi lobati ripieni di ovociti. Tuttavia egli credette che, in un certo numero di anguille argentine, l'organo lobato sia già stabilmente testicolo: ciò si verificherebbe, ad esempio, nelle anguille dello Stretto di Messina, nelle quali il GRASSI riscontrò spermatidi e spermi maturi.

Che anguille, sia gialle che argentine, provviste di organo del Syrski, possano diventare femmine, è risultato chiaramente dimostrato da una ultima serie di ricerche del MAZZA (1923), il quale mediante biopsie, scelse alcune anguille con organo del Syrski e le vide diventare femmine allevandole in ambiente adatto.

GIACOMINI (1907) sostenne l' idea di un precoce differenziamento ed ammise che il sesso è già stabilimente determinato nelle anguille lunghe circa 20 cm. e ritenne poco verosimile la trasformazione in ovaia dell'organo lobato.

« È necessario ammettere invece — dice il GRASSI (1919) — che il differenziamento dell'ovaia avvenga anche dopo che le anguille hanno sorpassato i 23 cm. e possa continuare ad avvenire almeno fino ai 33 cm., e che perciò individui forniti di organo del Syrski possano diventare femmine ». Il GRASSI, fra le molte anguille esaminate, trovò una ventina di esemplari

---

[1] Il BROCK, come ho già detto poc'anzi, non vide i corpi genitali nelle ceche.

fra i 21,5 e i 33 cm. di lunghezza incamminati, senza dubbio, verso il sesso femminile, poichè i loro corpi genitali presentavano nell'interno numerosissimi nidi di ovociti all'inizio dell'auxocitosi; ma l'aspetto esterno dei corpi, essendo essi privi delle caratteristiche pieghe dell'ovario e presentandosi più o meno lobati, era più quello di organi del Syrski.

Il Grassi chiama questi corpi genitali: « preovarii ».

Dallo studio istologico dei corpi genitali delle anguille il Grassi conclude: « molti individui originariamente ermafroditi, secondo le condizioni in cui vivono, diventano definitivamente maschi o femmine. In certi ambienti si formano molte femmine, in altri molti maschi (nè è da escludere che le femmine abbiano tendenza ad allontanarsi dal mare e i maschi a fermarsi più o meno vicino ad esso) ».

Dal carattere morfologico delle gonadi, Grassi divide le anguille in tre categorie:

1) anguille con gonade a forma di nastrino che diverranno femmine;

2) anguille con gonade profondamente lobata che diverranno di solito maschi;

3) anguille con gonade a lobi poco distinti che possono diventare maschi o femmine.

Il Grassi paragona i fenomeni che si osservano nell'anguilla a quelli da molti Autori riconosciuti negli Anfibi, e divide le anguille, come fa Witschi per le rane indifferenziate, in femmine certe, maschi certi, ermafroditi a tendenza femminile, ermafroditi a tendenza maschile.

Il D'Ancona (1923) ha studiato le anguille sotto i 20 cm. di lunghezza, di luoghi dove è stata riscontrata prevalenza di maschi e di altri dove risulta prevalenza di femmine; ma non ha notato alcun particolare che permetta di differenziare i corpi genitali delle anguille dell'una da quelle dell'altra località. Egli crede che il differenziamento possa avvenire in periodi di sviluppo svariati; ma in generale, quando le anguille non hanno ancora raggiunto 20 cm. di lunghezza, in certi casi già a 15,5 cm. Considera l'organo del Syrski tipicamente come un testicolo, ma ritiene che negli individui sessualmente poco determinati possa anche trasformarsi in ovaia.

CARATTERI DEI CORPI GENITALI ALL' INIZIO DELLA VITA DI ANGUILLA.

Durante tutto lo stadio di ceca nell'interno delle creste genitali non si osserva, come abbiamo visto nel capitolo precedente, alcun segno di attività.

Le creste genitali delle ceche vestite e delle anguille fino a 10 cm. di lunghezza, sono simili a quelle delle ceche, ma già in anguille di 10 cm. ho trovato diverse cariocinesi; ed è probabile che le prime divisioni compaiano anche prima, verso i 9 cm.[1]

Queste cariocinesi protogoniali sono relativamente voluminose, a cromosomi staccati. Contrariamente a quello che si osserva nei protogoni di molti Anfibi, i cromosomi sono poco allungati, quasi rotondi.

Si verifica in questa epoca un aumento nel numero delle cellule germinali: esso coincide evidentemente con l'apparizione delle cariocinesi. Nei primi stadî (fino a cm. 12) le cariocinesi sono rade e l'incremento numerico è ancor debole; negli stadî successivi (cm. 12-16), a un numero sempre maggiore di protogoni, corrisponde un fortissimo aumento delle divisioni.

Il Brock (1881) nota nelle gonadi di giovani anguille una netta differenza fra l'epitelio del lato esterno che egli chiama « germinativo » e quello del lato interno. Le cellule dell'epitelio germinativo, differenziandosi, aumenterebbero di volume, diverrebbero genitali e penetrerebbero nell'interno del corpo genitale; ivi giunte, si dividerebbero attivamente, dando luogo a cisti che per altro egli ha visto solo in *Conger*.

Io non vedo mai cisti derivate da moltiplicazioni di protogoni come ammette il Brock per i Murenoidi in generale. Due cellule, appena originate dalla cariocinesi della cellula madre, rimangono aderenti per un po' di tempo; i limiti fra le due cellule sono però netti e quando interviene un'altra divisione, esse sono del tutto isolate. In alcuni individui, anche di 11 mm., esiste, è vero, formazione di cisti, come quelle descritte dal

[1] Nel *Cottus bairdii* dopo la stasi, le prime divisioni mitotiche furono osservate in embrioni di 36 giorni (mm. 6,5) (Hann, 1927).

Brock, ma, in questi casi, si tratta dell'inizio della femminilizzazione del corpo genitale. Si formano allora delle divisioni ovogoniali, dei nidi di cellule che si trasformeranno in ovociti. Questi nidi non hanno niente a che vedere con l'incremento numerico dei protogoni nel corpo genitale.

Non può essere messa in dubbio una differenza di aspetto fra i due epiteli; ho trovata a volte questa differenza evidentissima in anguille di 9 cm. Ma ciò non significa che uno degli epiteli debba possedere il potere di produrre cellule germinali e l'altro no. Io credo che la diversa struttura dei due epiteli dipenda più che altro da cause meccaniche per il fatto che dalla superficie interna più facilmente si staccano durante il periodo di ceca i protogoni sporgenti e quindi in quei punti l'epitelio si stira e si rompe, e inoltre che quando penetrano nel corpo genitale i primi vasi sanguigni, essi si fanno strada sotto l'epitelio del lato interno che viene allora chiamato « lato vascolare ».

Ho già detto che non credo alla trasformazione di cellule epiteliali in genitali. Le « chiare forme di passaggio » descritte dal Brock, non sono, secondo me, che cellule un po' rigonfiate come si trovano in qualsiasi epitelio cubico. Non ho mai veduto figure che indichino una migrazione di queste cellule verso l'interno del corpo genitale. Nelle sezioni ormai relativamente estese della gonade di anguille di 18 cm. circa, si vedono cellule genitali anche molto piccole; esse appartengono al tipo dei gonociti minimi intorno ai quali già ho parlato nel capitolo sulle ceche (pag. 22); appariscono più abbondanti nel centro della gonade ed esistono in uguali proporzioni nelle parti periferiche; non sono affatto più numerosi dal lato dell'epitelio germinativo come dovrebbe essere, se avessero una origine epiteliale. Si noti, anche, che non in tutti gli individui sono presenti, e che abbondano in quei corpi genitali dove l'aumento dei protogoni è già avvenuto da un pezzo per opera di attive cariocinesi e dove prendono inizio, invece, fenomeni di differenziazione sessuale. Ho già detto che i gonociti minimi sono, secondo me, cellule germinali atrofiche; in questo caso, esse sono rimaste schiacciate fra le cisti all'inizio dell'ovogenesi.

Al cessare del periodo di stasi, per l'aumento del numero delle cellule germinali, l'organo muta gradatamente aspetto. L'epitelio esterno diventa più alto mentre quello interno rimane

molto basso. Il peduncolo è ancora formato dalle sole due lamine peritoneali, ma è molto allungato. I protogoni stanno spesso a coppie, che hanno avuto origine da divisioni. Le cellule follicolari sono anche esse proporzionatamente aumentate, credo per cariocinesi.

L'organo rimane più o meno lungamente in questo stato, sessualmente indeterminato, accrescendosi solo lentamente il numero delle cellule.

INIZIO DEL DIFFERENZIAMENTO SESSUALE.

Nella maggioranza delle anguille giovani fino alla lunghezza di 14 cm. il corpo genitale mantiene presso a poco i caratteri poco anzi descritti. In pochissime, invece, si comporta in un modo del tutto diverso, poichè già all'epoca della lunghezza di 9 cm. esso assume i caratteri che avrà in tutte le altre anguille solo verso i 17 cm. di lunghezza. Il numero dei protogoni è fortemente aumentato, del doppio e più fino a otto volte; l'organo non è più formato dai soli tre componenti primitivi: protogoni, cellule avvolgenti e stromiali, cellule dell'epitelio. Tra le due lamine del peduncolo si osservano vasi sanguigni che sono penetrati nell'organo. Questi vasi, addossati all'epitelio della faccia mediale della cresta, spostano i protogoni verso il lato esterno.[1] Accompagnano i vasi cellule connettivali che si diffondono nell'organo, formano fini trabecole connettivali e avvolgono e separano i protogoni. A questa prima comparsa del connettivo, conseguente alla penetrazione dei vasi, segue, od è quasi contemporanea, un'altra migrazione cellulare di maggiore importanza. Ad intervalli regolari, per tutta la lunghezza dell'organo, penetrano, dalle regioni vicine, grossi cordoni formati da cellule d'aspetto embrionale.

Ciascuno di questi « cordoni primari » si mantiene aderente all'epitelio del lato vascolare e attraversa, trasversalmente, la cresta dal peduncolo fin quasi all'apice. Il cordone, durante que-

---

[1] Nel *Cottus bairdii* (HANN, 1927) la prima migrazione di vasi dal mesenterio avviene in embrione di 48 giorni, quando le cellule genitali sono già incapsulate.

sto decorso, si assottiglia perchè dà origine, ad intervalli regolari, a tre o quattro paia di cordoni secondari. I cordoni secondari hanno decorso longitudinale.

Di ciascun paio uno si dirige cranialmente e uno caudalmente, fino a fondersi con cordoni secondari provenienti dai primari vicini. Oltre a decorrere longitudinalmente all'organo, i cordoni secondari si spostano lentamente dal lato vascolare al lato germinale e contemporaneamente si spandono a ventaglio sotto l'epitelio germinativo. In poco tempo così il connettivo invade tutto l'organo e isola completamente i protogoni l'uno dall'altro.

Esistono dunque anguille nelle quali durante lo sviluppo il differenziamento della gonade e la moltiplicazione delle cellule genitali avvengono assai più precocemente che nella maggioranza. Possiamo chiamare queste anguille a v a n z a t e .

Io credo che esse non superino il 10 % della massa totale.

INDICE NUMERICO DEI PROTOGONI NELLE GIOVANI ANGUILLE.

Come ho fatto per le ceche, ho studiato anche nelle anguille in via di sviluppo dai 9 ai 20 cm. l'andamento dell'indice numerico dei protogoni. Sulle ascisse di un sistema di coordinate ho riportato le lunghezze delle anguille studiate, e sulle ordinate l'indice numero dei protogoni.

L'andamento matematico di questo indice segue molto nettamente, come si vede dal diagramma (Fig. 2), un ramo di iperbole.

Questo fatto significa che dapprima l'incremento nel numero dei protogoni è lentissimo (la qual cosa si ricollega alla quasi costanza del numero nelle ceche), poi diviene sempre più rapido; rapidissimo è infine dai 16 ai 18 cm.

La frequenza delle cariocinesi, come ho potuto verificare, segue esattamente l'andamento della curva dell'indice numerico dei protogoni. Tuttavia con il rigoroso comportamento della maggioranza dei punti che si allineano lungo il ramo di iperbole contrastano altri punti segnati con ♀ nel diagramma, i quali si allontanano notevolmente dalla curva. Il loro comportamento esclude che si possa trattare di variazioni indi-

viduali. Se si trattasse di variazioni individuali, si dovrebbe, per le lunghezze molto vicine, trovare individui con indici numerici intermedi, compresi fra il punto corrispondente all'indice distaccato e la curva. In altre parole : la zona del grafico compresa fra i punti aberranti e la curva, se si trattasse di semplici variazioni individuali, dovrebbe essere cosparsa di punti e non esserne priva, come invece si verifica. I fatti perciò dicono che la maggioranza degli individui segue rigorosamente una curva di sviluppo fino ai 20 cm. e che da questa massa alcuni individui si differenziano perchè il numero delle loro cellule genitali aumenta con un ritmo differente. Lo studio istologico mostra che sono proprio questi individui aberranti, quelli la cui gonade si è modificata precocemente, per l'intervento della vascolarizzazione e per la formazione dello stroma connettivale. Tutti gli altri individui, invece, il cui indice numerico segue la curva, hanno fin verso i 16 cm. una gonade che mantiene aspetto embrionale. Il distacco fra gli individui che potremo chiamare, in antagonismo degli avanzati, arretrati, si fa meno accentuato man mano che, seguendo il ramo ascendente dell'iperbole, negli individui arretrati per l'aumentato ritmo delle cariocinesi aumenta più rapidamente il numero delle cellule genitali e la vascolarizzazione, e nella gonade compare lo stroma connettivale.

Questo significa che la percentuale degli individui avanzati dapprima era molto scarsa (circa il 10 % fra i 9 e i 13 cm.), e che col crescere di tutte le anguille si va facendo sempre maggiore e che a circa 19 cm. di lunghezza raggiunge il 100 %.

Ascrivo a un gruppo *A* gli individui che fra i 9 e i 13 cm. già hanno le caratteristiche di avanzati e metto in un gruppo *B* gli individui che raggiungono i caratteri di avanzati solo fra i 14 e i 19 cm. di lunghezza.

PRECOCE INCREMENTO DELLE GONADI, PRECOCE DIFFERENZIAMENTO DI FEMMINE ED OVOGENESI GIOVANILE.

Il Freud, il Giacomini ed il Bellini avevano notato che le più piccole femmine di anguilla, quando sono ancora poco rilevanti le pieghe caratteristiche dell'ovaio, si distinguono dai

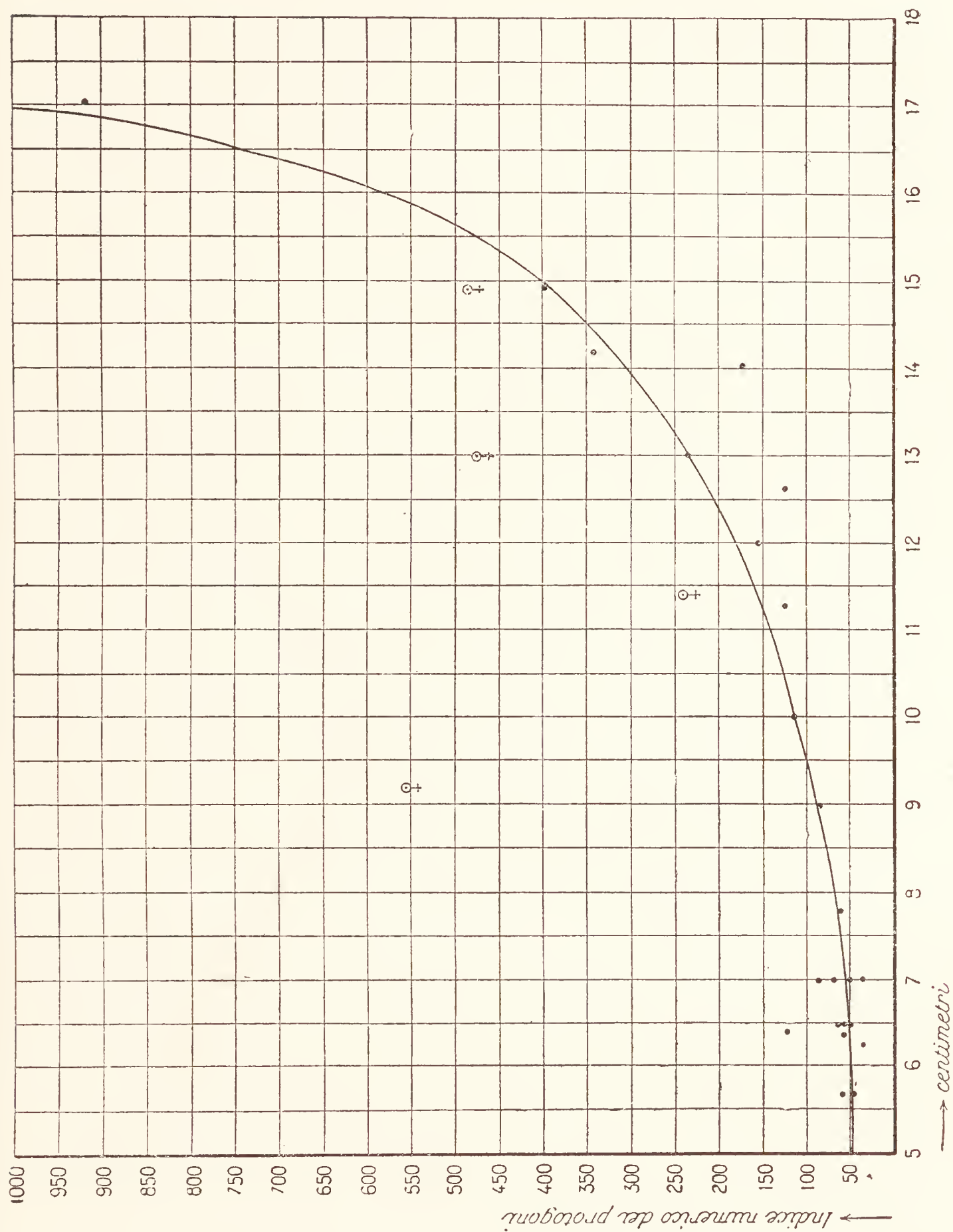



Fig. 2. — Curva dell'indice numerico dei protogoni in ceche e anguille in via di sviluppo.

maschi con organo del Syrski a lobi poco distinti solo per le dimensioni molto maggiori dei corpi genitali.[1] Il Grassi riconobbe istologicamente la femminilità in alcune anguille fra i 24,5 e 30 cm. anche prima che le gonadi avessero assunto qualsiasi caratteristica morfologica di ovaia. Ma i « preovari » di queste anguille (come li chiama il Grassi) sono generalmente uguali o di poco più grandi dell'organo lobato. E le mie ricerche confermano l'una e l'altra circostanza.

Se quindi, quando compaiono i primi caratteri istologici di femminilità,[2] la gonade è già di volume maggiore di un comune organo del Syrski di anguille di uguali dimensioni, non dovrebbe essere difficile di riconoscere anche prima della lunghezza di 20 cm. gli individui che femminizzano, perchè i loro corpi genitali dovranno essere di volume maggiore anche alquanto tempo prima.

Data la straordinaria piccolezza dei corpi genitali delle anguille di 9 e 10 cm., sarebbe impossibile giudicare questo aumento di volume con il solo esame morfologico. Ma se consideriamo che il volume delle gonadi dipende in primo luogo dalla quantità delle sue cellule genitali, e che quindi l'indice numerico di queste cellule può indirettamente testimoniare del volume, mediante lo studio del comportamento dell'indice numerico potremo, anche in stadi alquanto giovani, identificare quelle anguille che, per il precoce incremento delle gonadi, si incamminano verso la femminilità.

Io credo che si possono attribuire tali qualità alle anguille, che mediante lo studio dell'indice numerico, ho ascritto, nel paragrafo precedente, al gruppo *A* ; e credo, per giunta, che

---

[1] « Nelle piccole anguille di 20 cm. il margine libero mostra solamente una piccola ondulazione e mal si distingue da un ovario stretto e non distintamente fornito di pieghe, benchè i piccoli ovari siano già tre volte più larghi » (Freud, 1887).

« L'ovaia è un semplice nastrino senza pieghe ma già distinguibile per l'altezza » (Walter, 1910).

« In piccole anguille di 20 cm. gli organi lobati poco differiscono da un'ovaia, quantunque in tali individui l'ovaia sia due o tre volte più grande » (Bellini, 1915).

[2] Forte percentuale di nidi di ovociti in auxocitosi e di ovociti isolati in accrescimento.

queste anguille possano derivare dalle ceche lunghe, per quanto ancora manchino dati sicuri che confermino l'ipotesi.

Sono infatti proprio le ceche più lunghe, che si trovano in condizioni di nutrizione migliore, quelle che hanno un accrescimento più rapido, un maggior numero di cellule genitali, che cioè si trovano in condizioni più adatte perchè nelle loro gonadi insorga un rapido aumento dell'indice numerico protogoniale.

Se questa ipotesi fosse giusta, le ceche lunghe sarebbero dunque destinate a divenire direttamente femmine.

Le più piccole femmine, riconoscibili dall'aspetto esterno dell'ovaia, sono state trovate dal GIACOMINI (1907) a 21,7 cm., dal FREUD (1877) a 20 cm., dal BELLINI (1905) a 24 cm., dal GRASSI (1919) a 22 cm. Il GRASSI riconobbe un « preovario » già a 21,5 cm. Il D'ANCONA (1924) trova differenziate verso la femminilità anguille di 20 cm. e crede che la prima differenziazione riconoscibile citologicamente già esista verso i 15,5 cm.

Tutto ciò concorda con quanto ho detto a proposito del gruppo *A* (pag. 31 e seg.).

Nelle anguille del gruppo *A* i primi caratteri di femminilità sono riconoscibili mediante le variazioni dell'indice numerico fra i 9 e i 13 cm. ; caratteristiche citologiche dell'ovaia si incominciano a vedere fra i 14 e i 18 cm. ; l'aspetto esterno morfologico di ovaia non è chiaro che fra i 20 e i 24 cm.

Concludendo, le prime anguille che, dopo lo stadio di ceca, presentano una precoce evoluzione istogenetica delle gonadi, forse derivano dalle ceche lunghe che dànno origine alle poche femmine precoci trovate dai vari autori verso i 20 cm. E poichè le anguille del gruppo *A* rappresentano appena il 10 % della massa totale, la rarità, constatata dal GIACOMINI e dagli altri, del rinvenimento di una ovaia nelle anguille di circa 20 cm., va attribuita appunto alla scarsità di siffatte femmine.

Le cellule genitali isolate che si rinvengono nelle anguille a indice numerico elevato vanno interpretate come *archiovociti*. Esse danno origine a nidi di ovogoni e di ovociti che entrano in auxocitosi, e quindi a ovociti in accrescimento. Data la rapidità e la precocità di questi fenomeni e data la resistenza degli ovociti in accrescimento a non modificare il loro carattere, le

anguille del gruppo *A* sono stabilmente incamminate verso il sesso femminile e non credo che alcuna circostanza potrà in seguito modificare il loro sesso.

Dato che in queste anguille compaiono direttamente dallo stadio indifferenziato le prime caratteristiche morfologiche di ovaia, potremo asserire che in esse si costituisce la forma iniziale tipica del corpo genitale femminile e però le potremo chiamare femmine a precoce differenziazione (Tavola V, fig. 62).

Vediamo ora come si comportano le anguille che ho ascritte al gruppo *B*. Nel gruppo B continua, dai 14 cm. in poi (vedi fig. 2, pag. 33) la formazione di *individui avanzati,* che per altro sempre meno differiscono dagli individui arretrati. Questo succede per il forte sviluppo cui vanno incontro indistintamente i corpi genitali di tutte le anguille dai 14 ai 18 cm. A questo momento non si può parlare più di individui arretrati perchè tutti i componenti del gruppo *B*, più presto o più tardi, fra i 14 e i 19 cm., acquistano i caratteri di individui avanzati.

La curva dell'indice numerico indica che tutto il gruppo *B* fra i 14 e i 19 cm. subisce un processo che io ritengo di femminizzazione, caratterizzato in un primo tempo dall'aumento rapido del numero delle cellule genitali. Questo processo, con lo studio della curva suddetta, viene ad essere sorpreso molto tempo prima che intervengano i fenomeni auxocitari femminili. Dopo l'accrescimento i corpi genitali di quasi tutte le anguille del gruppo *B* incominciano a presentare indizi citologici di femminilità (Tav. V, fig. 63), mentre esternamente hanno forma lobata, carattere dell'organo del Syrski che, fondamentalmente, è ritenuto gonade di tipo maschile.

Come avviene per le femmine del gruppo *A*, si formano qua e là nella gonade, senza regole apprezzabili di sede, nidi di 8 a 16 nuclei nei quali prendono inizio processi auxocitari. Questi fenomeni, lo ripeto, si verificano in tutti gli individui. Mentre la differenziazione (dirò così) numerica (indicata dall'aumento del numero delle cellule) delle anguille del gruppo *B* avviene fra i 14 e i 19 cm., l'inizio della differenziazione citologica (auxocitosi) avviene entro limiti molto più vasti, dai 18 ai 30 cm. Anche l'intensità di questo fenomeno, che chiamo *ovogenesi giovanile*, è molto variabile. Vi sono anguille nelle quali la for-

mazione dei nidi di ovociti si sussegue con maggior rapidità di altri;[1] ma ho sufficienti elementi per affermare che l'ovogenesi giovanile avviene in tutti gli individui.[2]

Una ovogenesi giovanile o larvale è stata con chiarezza veduta in altri bassi Vertebrati, per esempio nel *Bufo viridis*. In questo anuro il BECCARI (1925) dimostrò che l'ovogenesi giovanile o larvale è molto precoce.

Essa insorge nella maggioranza degli individui (fino al-l'88 %) senza mai però normalmente raggiungere la totalità, come avviene nell'anguilla.

Essa non appare dispersa in tutto l'abbozzo del corpo genitale, come nell'anguilla, ma circoscritta ad una sua parte la quale nell'adulto residua sotto forma di organo del Bidder.

Il destino dell'ovogenesi giovanile delle anguille è profondamente diverso a seconda degli *habitat*.

Questo fatto spiega, a me sembra, le differenze regionali che sono state osservate nella proporzione dei sessi.

Nelle anguille di una località a prevalenza di maschi, contemporaneamente o poco dopo l'inizio dell'ovogenesi giovanile, insorgono nelle gonadi fenomeni degenerativi.

Questi fenomeni colpiscono: 1) nidi di ovogoni in divisione; 2) nidi di ovociti in riposo; 3) nidi di ovociti in leptotene diffuso o ordinato; 4) più raramente ovociti all'inizio del pachitene.

Non ho mai trovato degenerati in questa epoca i protogoni.[3] Una o due volte sole ho trovato degenerato un ovocita in accrescimento (stadio diplotenico).[4]

Ho cercato di riconoscere la comparsa e la intensità dei fenomeni degenerativi nelle varie epoche di sviluppo per una località a prevalenza maschile, e per una a prevalenza femminile

---

1 Ciò concorda col pensiero del GRASSI (1919, p. 108) che l'ovogenesi giovanile è più rapida in quegli individui dove è apparsa prima.

2 Già il GRASSI (1919) aveva affacciato il dubbio che non esistesse alcun maschio maturo completamente privo di uova. « Se si osservasse, — egli dice — tutto l'organo di ciascun maschio, si finirebbe per trovare sempre qualche ovocito ».

3 In tutto il gruppo *B* le cellule isolate hanno ancora il valore di protogoni, mentre nel gruppo *A* già devono essere considerate archiovociti.

4 Il GRASSI (1919) è stato il primo a notare questi fenomeni degenerativi e a sospettare l'importanza che essi hanno nella determinazione finale del sesso.

basandomi, oltre che su mie osservazioni, anche su dati che ho potuto ricavare dal lavoro del GRASSI.

Orbene nei luoghi a prevalenza maschile la comparsa di degenerazioni coincide col principio dell'ovogenesi, cioè a 18 cm. Già all'inizio le degenerazioni presentano una intensità rilevante, che peraltro aumenta molto lentamente col progredire della lunghezza e presenta un massimo fra i 27 e i 31 cm. per poi lentamente diminuire.

Nei luoghi a prevalenza femminile si incomincia a vedere degenerazioni verso i 24 cm. Esse presentano un andamento analogo a quello che si verifica nelle località a prevalenza di maschi con un massimo fra i 27 e i 31 cm. ; poi, anche in queste anguille, gradualmente diminuiscono.

Ritengo che i processi degenerativi siano dipendenti da particolari condizioni ambientali e non da particolari condizioni interne di singole anguille, perchè in tutte le anguille di un determinato ambiente ho riscontrato che il fenomeno si esplica con le stesse modalità.

Pur presentando i fenomeni degenerativi uguale intensità in tutti gli individui di un dato ambiente, ben diversa è nei vari individui l'epoca di comparsa della ovogenesi giovanile e quindi diverso il risultato finale. Questo dipende :

1) dall'epoca in cui è comparsa l'ovogenesi giovanile ;

2) dalla intensità dell' ovogenesi [1] e dall' andamento dei processi degenerativi caratteristici per le anguille di quella determinata località.

Data la grande estensione dei *campi di variabilità* di questi tre fattori, i casi che in natura possono avverarsi sono infiniti e quindi difficilmente si possono classificare ; ma essi sempre concorreranno insieme agli altri, di importanza maggiore, a determinare il sesso che poi si stabilirà nell'anguilla adulta.

---

[1] Questo secondo fattore è, in parte, collegato al primo. Infatti quanto prima avviene l'ovogenesi, tanto maggiore è la sua intensità ; l'intensità è poi maggiore in località produttrici di femmine.

PROCESSI DI MASCOLINIZZAZIONE E DEFINITIVO DIFFERENZIAMENTO DEI SESSI.

La forma esterna delle gonadi delle anguille del gruppo *B* dai 18 ai 30 cm. è nella maggioranza dei casi quello di un tipico organo lobato (del Syrski). Solo in quelle anguille nelle quali è insorta molto presto la ovogenesi giovanile (prima di 24 cm. circa) e con forte intensità, i lobi sono meno netti e presentano pieghe trasverse. Il comportamento della forma esterna è però molto variabile, come già hanno osservato il MAZZA (1913) ed il GRASSI (1919). Se si considerano come maschi gli individui muniti di organo del Syrski e femmine quelli il cui organo presenta pieghe trasversali, se ne concluderebbe, come fecero FREUD, GIACOMINI ed altri, che i maschi sono numerosissimi e le femmine molto poche.

Infatti, così ragionando, gli autori citati consideravano solo femmine le anguille del gruppo *A*, e qualche rara anguilla del gruppo *B* nelle cui gonadi esistevano pieghe trasversali. Se poi si esaminassero istologicamente, come fece il GRASSI, i corpi genitali fra i 20 e i 30 cm., senza averne seguìto gradualmente lo sviluppo, si troverebbero, come trovò il GRASSI (1919, p. 108) : 1) femmine certe ; 2) femmine o indifferenziate? ; 3) indifferenziate? ; 4) maschi o indifferenziati? ; 5) maschi.

A chi accolga la mia interpretazione che ho sopra esposta, rimarranno chiarite tutte e cinque queste categorie : Le femmine certe sono tutte le anguille del gruppo *A* e parte di quelle del gruppo *B* nelle quali l'ovogenesi giovanile è avvenuta con maggiore intensità e più precocemente. Le indifferenziate sono le anguille del gruppo *B* in realtà già in femminizzazione numerica se abbiano sorpassato i 19 cm. Le femmine indifferenziate sono le anguille del gruppo *B* che indirizzate verso la femminilità presentano i primi fenomeni di femminile auxocitosi.

Alle categorie 4ª e 5ª appartengono le anguille del gruppo *B* che hanno avuto una ovogenesi giovanile, ma molto ridotta ed in tarda epoca (da 26 a 30 cm.), nelle quali avvengono i processi di mascolinizzazione graduale come verrà appresso illustrato.

Contemporaneamente al graduale formarsi dei nidi di ovociti

della ovogenesi giovanile, avvengono in tutte le giovani anguille altri fenomeni che con l'ovogenesi non hanno nulla a che fare.

Primo di questi fatti è la comparsa di un canale deferente (Tav. V, fig. 63). La presenza di questo canale fu dapprima interpretata come indice di sicura differenziazione maschile, che avrebbe permesso di distinguere i maschi dalle femmine già verso i 20 cm. (Brock, 1881). Il Grassi (1919) trovò questo canale deferente in anguille di 31 cm. già indiscutibilmente femmine e quindi negò al canale il valore che gli era stato attribuito per la diagnosi del sesso.

Nelle femmine del gruppo *A* non ho mai veduto accenno alla formazione del canale deferente.

Raramente lo si osserva, anche nelle anguille del gruppo *B*, prima della lunghezza di 20 cm.;[1] compare invece con frequenza sempre maggiore man mano che progredisce la lunghezza delle anguille.

Il fatto dimostra che in quasi tutti gli individui del gruppo *B* un certo grado di mascolinità è indicato dalla comparsa di un organo accessorio oltrechè dal comportamento del corpo genitale, nel cui interno i protogoni incominciano a disporsi in fila indipendentemente dalla presenza e dal formarsi dei nidi di ovociti in auxocitosi. Verso i 29 cm.[2] l'allineamento delle cellule sessuali ha dato luogo gradualmente a cordoni maschili ben netti benchè ancora molto piccoli. Siamo, concludendo, in presenza di una mascolinizzazione graduale del corpo genitale nell'epoca stessa nella quale si svolge un ovogenesi.

Il ritmo dell'ovogenesi non sembra essere influenzato da questa mascolinizzazione. Si vedono infatti formarsi nuovi nidi di ovociti anche quando i cordoni sono ben delineati.

Nelle anguille del gruppo *B*, nelle quali l'ovogenesi è incominciata molto precocemente, dato il gran numero di uova e di nidi, la formazione dei cordoni può essere appena accennata o addirittura mancare e la gonade diventa un ovario (Tav. VI,

---

[1] Il Grassi (1919) lo segnala in anguille di 21 cm.; il D'Ancona (1924) già in una di 19 cm. e mezzo.

[2] Verso i 29 cm. nei luoghi dove le anguille argentine sono di dimensioni superiori ai 30 cm. Dove esistono argentine di dimensioni minori, la formazione dei cordoni deve incominciare necessariamente assai prima.

fig. 64). Invece nelle anguille dove l'ovogenesi è incominciata tardivamente, i nidi e gli ovociti isolati sono pochi e più numerosi appariscono i cordoni di cellule genitali.

È un fatto che la massima intensità di questi fenomeni di mascolinizzazione graduale avviene quando i fenomeni degenerativi raggiungono la maggiore intensità ; ma non credo che si possa dire che i due fatti sono interdipendenti. Se la mascolinizzazione fosse la causa delle degenerazioni, non si spiegherebbe come mai si incontrano degenerazioni numerose proprio quando in gonadi prevalentemente maschili apparisce l'ovogenesi giovanile e appena si accenna il canale deferente ; e neppure si spiegherebbe come mai il loro aumento sia relativamente debole fra i 27 e i 30 cm., proprio quando i fenomeni di mascolinizzazione assumono forte intensità. A volte manca qualsiasi accenno di mascolinizzazione in anguille di 25 cm. che presentano abbondantissime degenerazioni.

Probabilmente un terzo segno di mascolinità è anche la comparsa, contemporanea alla formazione dei cordoni, delle cellule interstiziali le quali nelle anguille sembra che esistano soltanto nel testicolo.

La loro presenza non impedisce la formazione nella gonade di nuovi nidi di ovocidi.

*
* *

Le femmine tipiche del gruppo *A*, sorpassati i 30 cm. continuano senza alcun mutamento il loro sviluppo in senso femminile. L'aspetto esterno non cambia, solo nel corso di anni avviene un lento accrescimento di peso e di lunghezza. Queste anguille assumono la divisa argentina solo quando hanno raggiunto le grosse dimensioni tipiche di capitoni.

Ugualmente si comportano quelle anguille del gruppo *B* che hanno subìto precocemente l'ovogenesi.[1]

Queste di regola non mascolinizzano e divengono secondariamente femmine. Quando hanno raggiunto la lunghezza di 29-30 cm. non assumono divisa argentina ma continuano a crescere.

---

[1] Mantengono però, se è avvenuta la formazione, il canale deferente, e a volte qualche caratteristica maschile nella forma della gonade.

Tutte le altre anguille del gruppo *B* che, raggiunta la lunghezza di 20-30 cm. mettono divisa argentina, divengono maschi.

Riunisco pertanto nel *sottogruppo B 1* tutte le anguille del gruppo *B* che diverranno femmine e nel *sottogruppo B 2* quelle che diverranno maschi.

Adunque dalla massa delle anguilline indeterminate, si differenzia (ed il differenziamento sembra che già esista allo stato di ceca) un numero ristretto di femmine (solo circa il 10 %) che non presentano alcuna traccia di mascolinità e che possono essere chiamate a precoce differenziamento (Gruppo *A*). Le restanti anguille vivono a lungo in uno stato indifferenziato e poi generalmente in parte minore divengono femmine (Gruppo *B 1*); mentre la maggior parte si trasforma in maschi (Gruppo *B 2*).

* * *

Ho allevato fin dal maggio 1931 alcune anguille « gialle » lunghe 29-32 cm. Nel settembre dello stesso anno in tutte erano visibili i primi accenni della divisa argentina, poi gradatamente si sono trasformate, fino ad assumere nel dicembre 1931 una divisa di nozze quasi completa.[1]

Ho eseguito su quattro di queste anguille una verifica dello stato dei corpi genitali, secondo il metodo Mazza, eseguendo cioè ripetute biopsie a vari intervalli di tempo.[2]

Dal settembre al dicembre ho più volte riaperta la ferita per verificare col controllo istologico l'evoluzione del corpo genitale.[3]

Nelle anguille argentine o macroftalme, contemporaneamente alla prima variazione di colore della pelle e all'inizio

---

[1] Non del tutto poichè l'occhio misurava solo 5 × 6 mm.

[2] Per danneggiare il meno possibile le anguille ho ridotto le dimensioni della ferita operatoria a 1 cm. e mezzo e ho eseguita l'operazione in due minuti circa.

[3] Delle quattro anguille operate una sola è sopravvissuta a questi ripetuti trattamenti. È notevole il fatto che la trasformazione argentina è avvenuta indipendentemente dai maltrattamenti della operazione, dalla mancanza di nutrimento e dalle cattive condizioni ambientali (vasche piccole di acqua corrente). Questi fatti dimostrano che l'assunzione della divisa di nozze è almeno in questo caso indipendente dalle condizioni ambientali e di nutrimento.

della dilatazione degli occhi, si stabilisce un fortissimo aumento della vascolarizzazione della gonade. Quando ho operato la prima anguilla, ho creduto a prima vista che si trattasse di un fatto patologico. L'organo del Syrski era alto 2 mm. ed invece di essere quasi trasparente come nelle anguille gialle, presentava la stessa opacità e lo stesso colore della milza.[1]

Dopo un mese la divisa di nozze era molto progredita. Riaperta la ferita, ho notato l'organo leggermente aumentato di volume e molto meno congestionato. Ne ho asportato una parte ed ho eseguito l'esame istologico.

Ho rinvenuto cordoni pieni, ben sviluppati, costituiti di spermatogoni in attivissima divisione. Durante l'ottobre e il novembre ho riaperto diverse volte la ferita senza asportare lobi di testicoli : la congestione sempre più diminuisce mentre aumenta altezza e spessore dell'organo.

A dicembre ho ucciso l'ultima anguilla sopravvissuta, che aveva già occhi di 6,5 × 6,5 mm. I lobi testicolari erano molto sviluppati : raggiungevano in alcuni punti l'altezza di 4 e 5 mm. All'esame istologico è risultato che molti cordoni erano già cavi e che nel lume sporgevano grossi nidi delle ultime divisioni spermatogoniali.

Dal complesso delle mie osservazioni si può dedurre che :

1) La gonade delle anguille del gruppo *B 2* verso i 30 cm. sta lungamente in quiete. Non si tratta di un arresto di sviluppo ; ma di una *stasi dinamica* nel senso che i nidi femminili, che via via si formano, sistematicamente degenerano e l'organo rimane su per giù allo stesso stadio di sviluppo, se si eccettuano i lievi fatti di mascolinizzazione graduale. L'organo, di solito, ha forma lobata e piccolo volume.

2) Quando compaiono i primi sintomi esterni della divisa argentina, incomincia una forte vascolarizzazione nella gonade che ancora non è aumentata di volume. Quindi l'inizio della

---

1 Per paura di forti emorragie con la prima biopsia eseguita a settembre non asportai alcun pezzo di organo ; solo misurai l'altezza dei lobi che era circa 2 mm. Esaminai istologicamente l'organo lobato di altre anguille semi-argentine del medesimo lotto e rinvenni ugualmente forte vascolarizzazione. Cessa completamente la formazione dei nidi di ovociti ; degenerano quelli esistenti e rimangono intatti solo gli ovociti in accrescimento.

divisa argentina non è una conseguenza dello sviluppo del corpo genitale ma il prodotto dello stesso *quid* che contemporaneamente provoca la vasodilatazione della gonade, il forte aumento delle mecariocinesi, la completa sistemazione dei tuboli seminiferi, l'aumento degli spermatogoni e il conseguente maggiore volume dell'organo : in altre parole, la trasformazione di una gonade quiescente in un testicolo nel quale hanno inizio moltiplicazioni cellulari che preludono alla spermatogenesi (Tavola VI, fig. 65).

3) Il *quid* non può dipendere dalla presenza nel testicolo di « cellule interstiziali » poichè queste cominciano ad apparire quando ancora continuano a formarsi nidi di ovociti e quando la spinta della mascolinizzazione è già in atto.

4) Il *quid* non può dipendere dall'ambiente e dal nutrimento. Anguille prive di cibo, maltrattate dalle ripetute operazioni e in ambiente cattivo, hanno assunto ugualmente la divisa argentina.

Concludendo, le anguille del gruppo *B 2* subiscono durante una stasi prolungata della gonade una lenta e graduale mascolinizzazione. Poi, bruscamente, la mascolinizzazione si fa rapida ed energica, sicchè in pochi mesi il corpo genitale aumenta tre volte di volume e diventa decisamente testicolo.

Dopo tutto quello che ho osservato mi è venuto in mente che forse possano influire sul brusco determinismo istogenico della gonade maschile azioni ormoniche di organi a secrezione interna che non siano il testicolo ; e il pensiero ci porta, dato che già esistono a questo proposito una serie di esperienze in Mammiferi (SMITH e ENGLE, STEINACH e KULM, FELS, ZONDEK, BARTELS e forse altri) a chiamare in giuoco la ghiandola pituitaria.

Ma questo argomento mi allontanerebbe dal campo delle ricerche che mi sono prefisso.

QUANTITÀ PROPORZIONALE DEI SESSI E SUE DIFFERENZE REGIONALI.

Sembra accertato che la quantità proporzionale delle anguille del gruppo *A* rimanga costante in qualsiasi località.

Ciò che varia invece è la ripartizione delle anguille dei sotto-

gruppi *B 1* e *B 2*. La presunta variabilità regionale della proporzione fra i due sessi ammessa in passato da molti autori era basata sulla erronea interpretazione del sesso maschile applicata a tutte le anquille fornite di organo del Syrski, mentre ora sappiamo che tutti gli individui del gruppo *B* posseggono in un primo tempo l'organo del Syrski e che poi non tutti divengono maschi. Ma se invece, pur considerando maschi tutti gli individui con organo del Syrski, facciamo la statistica sessuale delle anguille di circa 30 cm, in una epoca di poco precedente alla comparsa della divisa argentina, troveremo nelle anguille del gruppo *B* già le caratteristiche morfologiche della trasformazione dell'organo del Syrski in ovaia; e le percentuali, anche se basate sulla sola osservazione esterna, daranno all'incirca la vera proporzione dei sessi della località.

A questo proposito sono state fatte molte statistiche per varie località da varii ricercatori, ed esse hanno dimostrato che esistono luoghi a fortissima prevalenza femminile, altri a forte prevalenza maschile collegati fra loro da numerosi gradi intermedii; e luoghi infine ove la proporzione dei sessi è quella che si riscontra normalmente nella maggior parte degli animali, cioè maschi e femmine in uguale quantità.

Come ho detto, io non credo che in questa variazione influisca il contegno del gruppo *A*; ogni differenza di *sex-ratio* dipende, lo ripeto, dalla differente proporzione dei sottogruppi *B 1* e *B 2*. Su questa variabilità pare che influiscano: 1) l'intensità dell'ovogenesi giovanile; 2) l'intensità dei processi degenerativi.

Se i processi degenerativi raddoppiano di intensità, aumenta *B 1* a scapito di *B 2*, quindi si ha prevalenza di maschi. Quando invece il processo degenerativo è meno intenso, molti individui, che sarebbero rimasti in stasi dinamica e si sarebbero poi trasformati in maschi, si trasformano invece in femmine.

Sono stati ben studiati riguardo alla proporzione dei sessi un ciclostoma, l'*Entosphoenus wilderi*, dall'OKKELBERG (1921), un teleosteo, il *Salmo irideus*, dal MRSIC (1923), gli Anfibi anuri, *Rana temporaria*, dal WITSCHI (1914) e *Bufo viridis*, dal BECCARI (1923).

Possiamo graficamente riprodurre il comportamento della *sex-ratio* in queste specie nell'epoca giovanile o larvale e nel-

l'età adulta, e dall'esame simultaneo dei diagrammi giudicare delle somiglianze e delle divergenze (Fig. 3).

In un primo segmento di retta (1) che immagino suddiviso in cento parti, indico la proporzione dei sessi quando compaiono i primi segni differenziali nella vita giovanile.

In un secondo segmento (2), che egualmente immagino suddiviso in cento parti, segno invece la proporzione dei sessi negli adulti.

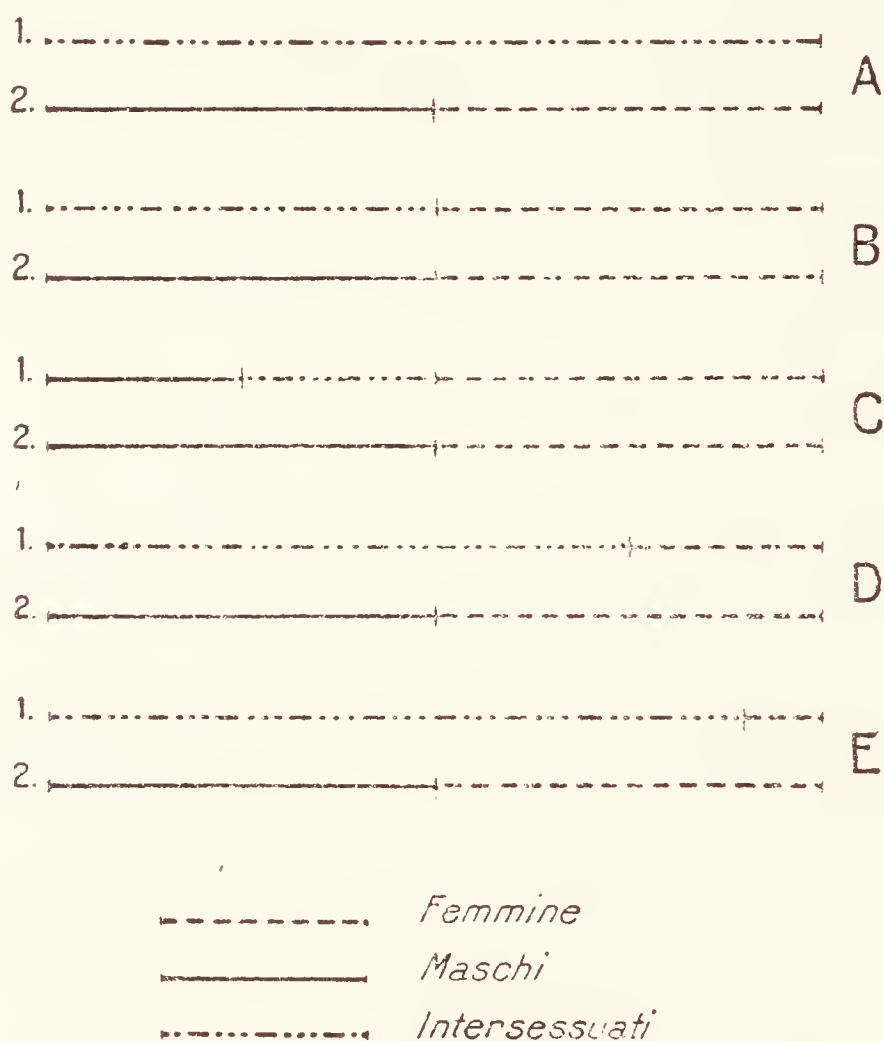



Fig. 3. — Rappresentazione grafica della percentuale dei sessi in: *A*, *Entosphoenus wilderi*; *B*, *salmo irideus*; *C*, *Rana temporaria*, razza indifferenziata; *D*, *Bufo viridis*; *E*, *Anguilla vulgaris* (1, stadio giovanile; 2, adulto).

Indico con spezzatura semplice la parte proporzionale alle femmine differenziate e con tratti alternati con punti quella degli indifferenziati, degli individui cioè che in varie proporzioni presentano caratteri di mascolinità e di femminilità; lascio infine senza interruzioni la parte del segmento che indica la percentuale dei maschi differenziati.

Orbene i giovani (*anmocoetes*) di *Entosphoenus wilderi* (*A*)

sono tutti indifferenziati; poi da adulti metà divengono maschi e metà femmine.

I giovani (avanotti) di *Salmo irideus* (*B*) sono per metà già femmine differenziate e per metà indifferenziati, a sviluppo ultimato tutti gli indifferenziati divengono maschi.

Qualche cosa di simile avviene nelle razze a tardiva differenziazione (indifferenziate) di *Rana temporaria* (*C*), con questa differenza che già nello stadio giovanile si incontra il 25 % circa di maschi puri.

Nel *Bufo viridis* (*D*) invece la presenza dell'organo del Bidder complica alquanto l'interpretazione del carattere sessuale degli individui, perchè l'organo che è femminile persiste in tutti i maschi. Tuttavia negli adulti si arriva a un netto differenziamento dei maschi dalle femmine. Nello stadio larvale tre quarti circa degli individui sono indifferenziati, un quarto solo è di femmine pure.

Il caso dell'anguilla sembra un po' avvicinarsi a quello del *Bufo viridis*: un decimo circa di giovani anguille sono femmine pure, tutte le altre sono indifferenziate. A seconda della località questi intersessuati in varia proporzione divengono in parte maschi e in parte femmine.

FEMMINIZZAZIONE TARDIVA DI MASCHI ARGENTINI.

Anguille del gruppo *B* che in determinati ambienti sarebbero diventate maschi, in altri, quasi certamente, diventano femmine e viceversa; per questo può variare il rapporto dei sottogruppi *B 1*, *B 2* e in conseguenza il rapporto dei sessi.

Ma mentre questo fenomeno rientra nella normalità per la specie, la trasformazione in femmine dei maschi argentini da varii autori ammessa, a me sembra che debba essere piuttosto considerata un fatto aberrante; però non credo che questa circostanza possa normalmente influire sulla proporzione dei sessi, come vorrebbe il MAZZA.

Il MAZZA a questo proposito eseguì le prime esperienze nel 1897 allevando 12 anguille argentine, sotto i 37 cm., in acqua dolce; dopo cinque anni, nel 1902, due sopravvissute avevano raggiunti una cm. 48, l'altra, 46 cm. Uccise, le an-

guille presentarono nastri ovarici, sia pure con ovociti pochissimo sviluppati. Il medesimo ricercatore avrebbe ottenuto in un'anguilla argentina allevata in acqua dolce la formazione di un' ovaia la cui forma esterna sarebbe stata identica a quella di un organo del Syrski. Il GRASSI in un maschio argentino tenuto un anno in acqua dolce riscontrò la formazione di abbondanti nidi di ovociti di 62 μ, mentre gli spermatidi e gli spermi già presenti apparivano degenerati. Ma non sempre le anguille tenute in acqua dolce si trasformano in femmine. Il MAZZA operò nel 1913 di asportazione di parte dell'organo lobulare 6 anguille argentine di Orbetello lunghe 29-30 cm. Nessuna di queste anguille, quantunque avessero vissuto sei anni ed una avesse raggiunto i 41 cm., presentò il nastro ovarico. All'esame istologico presentarono un aumento del connettivo interstiziale.[1] Concludendo, non tutte le anguille argentine tenute prigioniere in acqua dolce o anche salata (GRASSI, 1919) diventano femmine ; nella maggioranza dei casi avviene dopo cinque o sei mesi (BROCK, 1881) una lenta atrofia dell'organo, la scomparsa del colore argentino e delle altre caratteristiche dell'abito nuziale, ed interviene un periodo di crisi che nella maggioranza dei casi porta a morte l'animale.

Alcune di queste anguille, nelle quali forse l'evoluzione della spermatogenesi non era ancora molto progredita, se tenute in condizioni ambientali e di nutrizione buone, continuano a crescere e sorpassano le dimensioni proprie dei maschi. L'organo del Syrski o rimane atrofico, sclerosato, e si hanno maschi sterili ; oppure, pur mantenendo nella maggioranza dei casi la forma lobata, si trasforma in ovaia.

Ma, come ho detto, non credo che casi di questo genere possano avvenire in natura con sufficiente frequenza da influire sulla proporzione dei sessi e sarei incline ad ascrivere queste inversioni alla categoria di quelle che sono state sperimentalmente ottenute anche in altri animali ; cito, ad esempio, la inversione di un maschio provocata dallo CHAMPY con il digiuno nel *Triton alpestris*.

---

[1] Le anguille di Orbetello, dopo quelle dello stretto di Messina, sono le più avanzate per quel che riguarda la spermatogenesi. Ciò forse spiega la resistenza alla inversione del loro testicolo.

STORIA DELLE INDAGINI SUI PROBLEMI RELATIVI AL SESSO CON PARTICOLARE RIGUARDO AI PESCI TELEOSTEI.

Un teleosteo nel quale è stata studiata estesamente la differenziazione del sesso e i fenomeni concomitanti è il *Salmo irideus* (Mrsic, 1923).

In embrioni di 121 giorni [1] dalla fecondazione possono essere osservati i primi caratteri strutturali che precorrono le future differenze sessuali. Le gonadi di tipo maschile presentano numerose cisti a confini cellulari non visibili, prodotte da attive divisioni delle primitive cellule germinali isolate, e le cellule stromatiche si trovano schiacciate fra le cisti.[2] Le gonadi di tipo femminile presentano un minore numero di cellule genitali, ma una maggior grandezza. Le cellule stromatiche sono aumentate.

La differenziazione deve procedere lentamente, perchè al 131° giorno sono ancora numerosi gli individui con gonadi indeterminate. Verso il 145° giorno la differenziazione è quasi completa; nei ♂ le cisti si sciolgono e le cellule genitali si dispongono in file; nelle ♀ le grosse cellule circondate da cellule follicolari (ovociti) aumentano fortemente di numero. L'autore crede che questo aumento avvenga per trasformazione in ovociti di cellule genitali indeterminate che persistono intramezzate agli ovociti. Al 250° giorno dalla fecondazione, il sesso è riconoscibile anche macroscopicamente.

Negli embrioni di un altro teleosteo, del *Cottus bairdii* (Hann, 1927), si formano nelle gonadi dei nidi cellulari, che nel ♂ si trasformano in tubuli, mentre nella femmina si risolvono in cellule disseminate. Per la distinzione del sesso il Hann si basa sulla comparsa nelle prime ♀ (52 giorni dalla fecondazione) della doccia dell'ovidotto e sull'inizio delle fasi maturative negli ovociti.

---

[1] L'autore dà tutti i dati di sviluppo. La temperatura dell'acqua era costante su 12-13° C.

[2] Si trovano inoltre cellule genitali isolate molto somiglianti ad ovociti, le quali hanno fatto pensare al Mrsic che vi sia pure nel maschio una originaria tendenza alla femminilità.

Weishaupt (1925) in *Girardinus reticulatus* distingue i maschi dalle femmine dalla presenza nelle gonadi ♀ di grossi ovociti che ritiene derivati dalle cellule genitali primordiali. In *Cimatogaster* (Eigenmann, 1896) i sessi sono riconoscibili in larve da 15 a 17 cm. in base a differenze nella tunica che copre il corpo genitale. In larve di 22-25 mm. è già formata la cavità ovarica e quindi i sessi sono perfettamente distinti.[1]

Nella maggioranza dei Teleostei i sessi sono riconoscibili solo al primo apparire delle auxocitosi nelle cellule femminili. In alcune specie, per la precoce formazione delle vie efferenti, si può stabilire il sesso prima della differenziazione citologica. Non è invece, di solito, possibile un riconoscimento del sesso tenendo conto della mutua posizione che assumono le cellule genitali nell'abbozzo della gonade, come lo è negli Anfibi.[2] Nel caso del *Salmo irideus* (Mrsic) i maschi si distinguerebbero per un precoce aumento nel numero delle cellule genitali, indicato dalla formazione di cisti, a differenza delle femmine nelle quali l'aumento nel numero delle cellule (ovociti) avverrebbe solo più tardi.[3]

Le variazioni della *sex-ratio* che si verificano in varie epoche della vita di molti animali possono dipendere da cause di natura molto diversa. Una delle cause più frequenti è la mortalità selettiva.

Secondo Geiser (1924) a questa causa va riportata la forte

---

[1] Differenze fra i due sessi relativamente assai precoci esisterebbero anche da un punto di vista fisiologico.

Remotti (1928) nella *Gambusia* notò che gli scambi respiratorî sono più accentuati nel ♂; il ♂ è inoltre stenoionico mentre la ♀ è eurionica. Queste differenze, dice il Remotti, sono evidenti quando il sesso è maturo; ma forse lo sono anche un po' prima.

[2] Negli Anfibi sembra ormai assodato che (Witchi, Beccari, ecc.) uno dei primi caratteri differenziali del sesso nella gonade sia la posizione dei protogoni. Se i protogoni restano alla superficie, ove di regola si trovano fin dal primo costituirsi dell'abbozzo, l'organo evolve verso il sesso femminile; se invece si approfondano nell'interno, l'organo diventa maschile.

[3] Curioso è che il Mrsic non parla dei nidi di cellule in auxocitosi, le quali devono aver precorso la formazione degli ovociti, perchè non è possibile che i protogoni primordiali diano origine ciascuno a un solo ovocita, anzichè a un nido di ovociti, come è stato comunemente veduto negli altri Vertebrati. Si noti inoltre che l'autore parla di nidi cellulari, e di ovociti nei maschi.

preponderanza di femmine a sviluppo ultimato. Nella *Gambusia holbrooki* REMOTTI (1928) crede di poter spiegare questo fatto con le diverse proprietà fisiologiche dei due sessi.[1] Comportamento diverso fra giovani ed adulti rispetto alla *sex-ratio* presentano il *Carassius auratus* e le sue razze domestiche (SASAKI, 1926). Nella specie tipica, in individui dai 3 ai 5 cm. si trovano 46,6 ♂ per 100 ♀ ; in individui più grandi il numero dei ♂ decresce fino ad aversi o ♂ ogni 100 ♀. Nelle razze domestiche si trova invece una proporzione di 87 ♂ per 100 ♀ e anche 100 ♂ per 100 ♀.

Secondo SASAKI la causa del prevalere delle ♀ è anche in questo caso la mortalità selettiva ; mancano dati per spiegare il diverso comportamento delle razze domestiche rispetto alla specie tipica.

In altri animali le differenze nella *sex-ratio* fra giovani e adulti non sarebbero causate dalla mortalità selettiva ma dalla trasformazione del sesso in un certo numero di individui durante lo sviluppo (intersessualità del GOLDSCHMIDT).

Uno degli esempi, ormai ben noto, di questo fenomeno, rimanendo nel campo dei Vertebrati, lo presentano alcune razze di *Rana temporaria*, che il WITSCHI ha chiamato « razze indifferenziate ».

In queste razze alla metamorfosi esiste una forte preponderanza di femmine : per esempio, nella razza di Utrecht il WITSCHI rinvenne alla metamorfosi solo il 12 % di maschi, all'età di circa un anno e mezzo i maschi avevano invece raggiunto il 50 % circa. Un altro esempio di inversione del sesso durante lo sviluppo, che porta sicuramente a mutamenti nella *sex-ratio*, è stato scoperto nel genere *Amblystoma* (HUMPHREY, 1919). L'epitelio di rivestimento del testicolo larvale, alla età di 50-59 giorni, si sviluppa frequentemente in una tipica corteccia ovarica. Nella maggioranza dei casi, specialmente nell'*A. tigrinum* questa corteccia ovarica degenera, ma nell'*A. maculatum*, dove la corteccia apparisce molto più sviluppata, per distruzione della parte maschile, si può giungere alla completa trasformazione dei maschi in femmine.

Tanto nell'anuro *Rana* che nell'urodelo *Amblystoma* esi-

[1] Cfr. nota 1 a p. 50.

stono dunque individui larvali intersessuati che a sviluppo ultimato avranno il sesso inverso di quello col quale in loro si è iniziato il differenziamento, con questa differenza che nelle rane il sesso iniziale è femminile e negli *Amblystoma* è invece maschile.

Uno spostamento della *sex-ratio* può anche essere provocato artificialmente, ad esempio sottoponendo una razza indifferenziata a condizioni ambientali diverse. WITSCHI (1914) ottenne, così operando, una forte prevalenza di maschi per temperatura molto bassa, mentre, a temperature intermedie, aveva una preponderanza femminile.

È noto che anche con altro metodo si può spostare la proporzione normale del sesso, provocando cioè la sovramaturazione delle uova. Esperienze di questo tipo sono state eseguite su Pesci, Anfibi, Insetti; mi soffermo su quelle eseguite nei Pesci.

Lo sviluppo delle uova sovramaturate di *Salmo irideus* (MRSIC, 1923) procede normalmente fin verso il 200° giorno dalla fecondazione (vi è tendenza a produrre ovociti anche nel maschio ma questo si verifica altresì negli individui normali); la proporzione dei due sessi, riconoscibile con l'esame istologico delle gonadi, rivela una presenza di circa il 50 % di ♂.

Ma verso il 250° giorno, quando le gonadi assumono anche la forma esterna tipica del sesso, avviene una trasformazione di molte femmine in maschi e ne consegue una forte prevalenza maschile.

I pesci quindi si comporterebbero come le rane, nelle quali R. HERTWIG, KUSCHAKEWITSC e WITSCHI (come ormai è ben noto) provocarono una fortissima preponderanza di maschi con la sovramaturazione delle uova.

Ma sembra accertato che nei Pesci possa avvenire una inversione naturale oltrechè nei giovani, anche negli adulti.

In lotti numerosi di adulti di *Xiphophorus helleri* è stato rinvenuto il 74 % di femmine; mentre, più tardi, negli stessi allevamenti, le femmine discendono al 25 %, senza che intervenga mortalità selettiva. ESSEMBERG (1926) ha dimostrato che questo fenomeno deriva da inversione completa di molte femmine mature. Esse prima avevano dato origine a numerosa prole

(e nella prole la *sex-ratio* era quella normale per la specie), poi si erano perfettamente trasformate in maschi funzionanti.

L'ESSEMBERG ha potuto seguire istologicamente la trasformazione dell'ovario in testicolo: « l'intero ovario si disintegra, eccetto l'epitelio della cavità ovarica; da esso le cellule proliferano e formano cordoni sessuali.... Il testicolo è identico a quello di un maschio normale; l'ovidutto diventa spermodutto ».

Dalle osservazioni di CHEVEY (1922) sopra un individuo di *Perca fluviatilis* sembrerebbe che occasionalmente anche in questa specie potesse avvenire un caso simile in senso opposto rispetto al sesso. La *Perca,* di cui scrive lo CHEVEY, aveva inseguìto le femmine ed emetteva sperma comprimendole l' addome; uccisa molto tempo dopo presentava un ovario, sia pure uova in gran parte degenerate. L'autore non sa decidere se si trattasse, come è probabile, di un testicolo contiguo ad una ovaia oppure se vi fosse stata una vera trasformazione del corpo genitale. Egli spiega la degenerazione degli ovociti con l'impossibilità di emissione e con la stagione molto avanzata; e però crede che molto probabilmente il caso da lui descritto debba essere considerato come ermafroditismo proterandrico.

Anche il TURNER (1927) ha notato un caso di ermafroditismo in una *Perca* (Sp. ?). È presente un'ovaia normale e anteriormente esiste un testicolo di uguale grandezza, ma di forma anomala. La *Perca* era stata catturata in gennaio; presentava uova completamente formate e spermi; il trapasso fra il tessuto testicolare e quello ovarico era netto, senza accenno di parti degenerate.

BRUNELLI e RIZZO (1928) esprimono i loro dubbi sulla interpretazione dello CHEVEY. Essi ritengono che nella perca esistano dei casi di ermafroditismo innestati sul sesso femminile, mentre non sono state viste uova nella gonade maschile.

Nella *Clupea harengus* sono pure frequenti casi di ermafroditismo; GLÜBER (1930) enumera undici casi già descritti e ne illustra due nuovi. Tessuto testicolare e tessuto ovarico erano contemporaneamente presenti nello stesso organo, ma ben distinti e con variabile estensione. Lo stesso fatto esiste nei Salmonidi: DE BEER (1924) descrive una trota di 60 cm. nella quale da un lato esiste un testicolo normale e dall'altro un

ovario-testis. L'*ovario-testis* aveva struttura testicolare verso il polo caudale, mentre cranialmente appariva femminile.[1]

È evidente dagli esempi citati che nelle specie più disparate di Teleostei si può verificare, sia pure in via eccezionale, la presenza successiva o contemporanea nella stessa gonade di cellule genitali di sessualità opposta. D'altra parte nei Teleostei stessi, oltre a casi di ermafroditismo sporadico, si può avere ermafroditismo costante. Ciò si verifica per esempio nelle orate e nei serrani. Nei *Serranus* e nei *Sargus* secondo VAN OORDT (1929) tutti gli individui sono provvisti di *ovario-testis*. Le zone maschili e femminili sono ben separate, in ambedue i prodotti sessuali maturano. Uguale fenomeno è stato veduto in *Fierasfer*.[2]

Concludendo, nei pesci i casi di inversione sessuale normale dimostrerebbero che il determinismo del sesso in molti individui può essere metagamico. I casi di ermafroditismo vero ci dicono che nei pesci non si può parlare di ormoni specifici di un sesso; ciò vale non solo per le specie a normale ermafroditismo, ma forse per tutte, dato che in molti pesci sono stati già veduti frequenti casi di ermafroditismo eccezionale. Nei tentativi di spiegare i fenomeni del sesso nei Teleostei dobbiamo essere quindi molto cauti tanto nell'ammettere senz'altro determinazioni cromosomiali (e quindi progamiche e gamiche), quanto (e forse più) nel volere tutto spiegare con turbamenti di equilibri ormonali, come, ad esempio, vorrebbe l'ESSEMBERG (1926) per la inversione di femmine adulte di *Xiphophorus helleri*.[3]

Il GOLDSCHMIDT (1931), a proposito di queste femmine invertite di *Xiphophorus*, crede che in esse siano latenti le proprietà e le caratteristiche del sesso opposto, solo arrestate dagli ormoni che derivano dalle ghiandole sessuali che hanno preso il sopravvento: cessando l'azione dell'ormone o per castrazione,

---

[1] Si confronti questo caso con le trote da uova sovrammaturate del MRSIC (1923).

[2] Esiste la tendenza in alcuni autori moderni (MAUPAS, LENHOSSÈK, BEARD) a considerare la separazione dei sessi come primitiva nei Metazoi e di farne derivare come forma secondaria l'ermafroditismo.

[3] « Il sesso è controllato e derivato dagli ormoni dell'ovaio e del testicolo.... ogni agente o condizione la quale tenda a diminuire la capacità della secrezione ormonica diviene un immediato fattore di inversione ».

o per vecchiaia, allora si svilupperebbero le caratteristiche del sesso che geneticamente era in precedenza determinato.

Ricerche di R. HERTWIG (1921) sulla sovramaturazione delle uova di una farfalla, della *Limantria dispar,* nella quale è ormai indubitato che per il sesso femminile vige l' eterogametismo, dimostrarono che in questi animali la sovramaturazione determina lo sviluppo di una prevalenza di femmine anzichè di maschi, come avviene negli Anfibi e nei Pesci. La cosa fu spiegata ammettendo che nelle uova eterogamiche la sovramaturazione provoca sempre l'emissione coi globuli polari del cromosoma X. Tutte le uova quindi prive dell'*X*, rimanendo fecondate da spermi con *X*, non darebbero che prodotti *X O* (oppure *X Y*) cioè eterogamici e quindi femminili. Ma l'eterozigotia femminile non può essere sostenuta per i Pesci e per gli Anfibi. Secondo il WITSCHI (1914-1922) le razze indifferenziate di rana sarebbero omozigote per ambo i sessi, e per gradi si passerebbe alle razze differenziate nelle quali i maschi sarebbero eterozigoti. Sostanzialmente per le rane vigerebbe il tipo *Drosophila*.

Il MRSIC (1923) crede che anche nei pesci esista eterozigotia maschile, almeno nei Salmonidi, e lo stesso pensa il D'ANCONA (1924) per l'anguilla, senza tuttavia escludere completamente l'evenienza di una omozigotia in ambedue i sessi.

Si noti subito che mentre per gli Insetti si è potuto stabilire che la determinazione del sesso avviene secondo le leggi mendeliane — e l'esame citologico ha rivelato un corredo e un comportamento cromosomiale tale da convalidare vieppiù l'ipotesi dell'esistenza di cromosomi del sesso — per i Vertebrati inferiori invece (Pesci ed Anfibi) le indagini di questo genere hanno per ora dato risultati assai poco concludenti. Studi di accoppiamento fra un maschio normale di rospo ed un altro maschio sperimentalmente femminizzato (tutte e due evidentemente col medesimo valore zigotico) non hanno dato prole con *sex-ratio* corrispondente alle regole mendeliane per il sesso (PONSE, 1930). Del resto anche al presunto cromosoma del sesso degli Anfibi, che il WITCHI avrebbe scoperto nelle rane, sembra da recenti ricerche (GALGANO, 1931) che non si possa più mantenere il valore che il WITSCHI gli aveva attribuito.

R. HERTWIG (1921), EIDMAN (1921), ed il MRSIC (1923) credono alla omozigotia femminile, e spiegano i fenomeni della so-

vramaturazione, più che con un gioco cromosomiale, ammettendo influenze del plasma cellulare, come conseguenza di particolari perturbamenti, invero, non bene precisati.

Pochissime sono le ricerche di genetica e di citologia genitale nei Pesci che possano illuminarci su questo argomento, e riguardano quasi esclusivamente i Pecilidi.

Schmidt (1920) isolò dalle numerose varietà del genere *Lebistes* una forma che presentava una caratteristica di colorito portata solo dal maschio. Incrociò un maschio di questo tipo con una femmina : quindi gli ibridi della prima generazione fra loro, ecc. Egli trovò che la macchia era portata solo dai maschi e ne dedusse che essa caratteristica poteva essere attribuita ad un cromosoma *Y*, sicchè geneticamente poteva ammettersi che le femmine fossero *X X* ed i maschi *X Y*.

L'Aida (1911 e 1930), pure geneticamente, avrebbe trovato che anche in altri Pecilidi vigerebbe la formula ♀ *X X*, ♂ *X Y*. Il Winge (1922) ritiene di aver dimostrato, oltre che per via genetica anche per via citologica, la costituzione ♀ *X X*, ♂ *X Y* dei Pecilidi.

Pertanto sia per i Pecilidi che per i Salmonidi per vie diverse si verrebbe sempre ad ammettere una eterozigotia maschile.

Il Foley (1926) nella *Umbra limi* propenderebbe invece per una eterozigotia femminile e quindi omozigotia maschile. Egli ammette un corredo cromosomiale ♂ *X X*, ♀ *XO* per avere osservato due grossi cromosomi uguali, differenti dagli altri, nelle divisioni spermatogoniali.

Ma accanto al coro di consenso per una interpretazione cromosomiale della differenza di esso, non va dimenticato qualche autore che dalla maggioranza dissente. Held (1923), Stieve (1922), Fick (1924), fra gli altri, criticano il concetto nelle sue basi fondamentali : essi mettono in dubbio anche il corredo cromosomico di *Drosophila*, affermando che i suoi cromosomi sessuali *X* e *Y* sono fra loro ben poco diversi. Il Fick dice che il mendelismo cromosomico non riposa su fatti, ma su ipotesi vacillanti : i cromosomi del sesso sarebbero solo caratteri del sesso e non determinanti. A questa ultima interpretazione si unisce anche lo Hann (1927). Secondo Hann, non vengono trasmesse per eredità proprietà e caratteristiche morfologiche, ma solo

le più intime capacità reattive delle cellule. L'Essemberg (1926) scrive : « La teoria dei cromosomi sessuali è giunta al suo più alto grado di flessibilità ». Lo stesso Goldsmidt, a proposito delle inversioni dello *Xiphophorus*, parla di indifferenza sessuale e di azioni ormoniche.

Molti autori recenti, ancor più distaccandosi dal criterio morfologico per interpretare il differenziamento sessuale, parlano della possibilità che una azione s e s s o - d e t e r m i n a n t e sul *primordium* indifferenziato venga esercitata dalle ghiandole a secrezione interna. L'Adler (1917) nelle larve da uova sovra maturate di R. Hertwig vide uno sviluppo scrofoloso della tiroide e un aumento del timo. Queste ghiandole apparivano differenziate prima delle gonadi ; quindi era logico pensare che potessero avere influito sul loro sviluppo. Lo Swingle (1917) non ammette una correlazione di sviluppo e differenziamento fra tiroide e ghiandole sessuali, ma lo Hann ha trovato in girini giganti, insieme a ipofisi eterotrofica, gonadi straordinariamente sviluppate.

Non manca infine chi riporta in onore vecchie esperienze (Emery, Russo, ecc.) secondo le quali il differenziamento dipenderebbe dal diverso tipo di ricambio cellulare. Il Leupold (1924) ritorna ad ammettere che l'uovo del coniglio si differenzia verso la femminilità se nel sangue è presente lecitina in quantità bastante, mentre, se ve ne è scarsità, prende origine un maschio.

* * *

Concludendo, indipendentemente dalle diverse interpretazioni, la determinazione del sesso non sembra avvenire col medesimo meccanismo in tutti gli animali. Come per tanti altri fenomeni naturali, con diversi mezzi si raggiunge lo stesso fine, ed urta quindi contro i dati dell'esperienza chi voglia generalizzare troppo una qualsiasi teoria. Puro meccanismo cromosomico, oppure meccanismo cromosomico con intervento di proprietà citoplasmatiche dell'uovo, influenze generiche di ambiente interno cioè umorali e ormoniche, che alla loro volta risentono di variazioni di ambiente esterno (cioè di temperatura, di nutrizione ecc.), sarebbero tutti fatti che individualmente o con-

comitanti, a seconda degli animali, concorrerebbero a determinare, più o meno precocemente e stabilmente, il sesso.

Nei corpi genitali di tutte le larve di *Salmo irideus* che verso il 121° giorno di sviluppo appariscono decisamente incamminate verso il sesso maschile, sia da allevamenti di uova normali che di uova sopramaturate, il Mrsic (1923) rinviene grosse cellule genitali, senza dubbio ovociti, che in seguito degenerano. Ciò dimostra che tutti i futuri maschi hanno albergato cellule con precoce tendenza verso il sesso femminile, e fatti dello stesso genere erano già stati veduti anche negli Anfibi anuri (Witschi, 1914; Swingle, 1921; Beccari, 1924-25, ecc.) Lo Champy (1921) negli Urodeli, provocando con il digiuno la castrazione alimentare, ottenne la trasformazione di maschi adulti in femmine. Ciò sembra confermare che la tendenza femminile persiste nelle cellule genitali meno differenziate dei corpi genitali maschili. A uguale conclusione conducono le numerose constatazioni di comparsa di ovociti nella compagine di tessuto testicolare rigenerato dopo innesti sperimentali in Anfibi anuri (Welti, 1923-28; Ponse, 1923-25) ed Urodeli (De Beaumont, 1929; Beccari, 1930, ecc.).

Dal complesso delle mie e delle precedenti ricerche sull'anguilla e da questa rapida scorsa bibliografica si può dedurre, io penso, che nell'anguilla si ripete un processo di differenziamento sessuale non molto dissimile da quello osservato in altri Pesci teleostei e negli Anfibi anuri.

La presenza di ovogenesi giovanile, della quale ho chiarito l'esistenza ed il comportamento, dimostra che nell'anguilla, come nei Bufonidi, le cellule genitali che per prime si differenziano, appaiono in qualsiasi individuo di natura femminile.

Nella maggioranza degli individui, solo tardivamente, attraverso uno stadio indifferenziato, si consolida stabilmente il sesso.

L'OVOGENESI.

Sull'ovogenesi dei Murenoidi si hanno solo brevi cenni dati dal Cunningham (1896). Egli descrive alcuni stadi isolati della ovogenesi di *Conger, Murena, Anguilla.* Ho voluto quindi seguire con particolare accuratezza lo sviluppo dell'ovocita di

Anguilla. Per la nomenclatura ed i confronti mi riferisco alla memoria dello STIEVE sull'ovogenesi nel *Proteus* (1927) ed ai lavori sulle cellule genitali degli Anfibi del BECCARI.

ARCHIOVOCITI E LORO MOLTIPLICAZIONE.

Nel caso dell'anguilla possiamo distinguere un protogonio da un archiovocita con criterio puramente teorico. L'aspetto citologico dell'archiovocita è infatti troppo simile a quello di un protogonio per permettere una differenza morfologica fra i due tipi di cellule.

Si tratta piuttosto di una differente finalità : il protogonio, dividendosi, dà origine a una serie di cellule isolate e ad altri protogoni ; l'archiovocita, nella maggioranza dei casi, a un nido di ovogoni.

Negli animali, nei quali la differenziazione del sesso avviene nettamente, a una determinata epoca, si possono, come dice il LEVI (1905), chiamare archiovociti le cellule isolate dopo che è apparso nella gonade il carattere femminile. Nell'anguilla invece la distinzione dei due tipi di cellule è quasi del tutto arbitraria giacchè, durante l'ovogenesi giovanile, la presenza di nidi di ovociti non implica affatto il destino del corpo genitale e quindi, contemporaneamente, alcune cellule possono avere valore di archiovociti, altre quello di protogoni, che in seguito daranno origine ad archispermiociti.

Le massime dimensioni degli archiovociti sono $12 \times 9\ \mu$ e quelle del loro nucleo $10 \times 7\ \mu$. Un lieve carattere distintivo tra profasi archiovocitiche e profasi protogoniali è costituito forse dalla maggior grandezza del nucleo e dei cromosomi nelle prime. L'archiovocita in riposo non si distingue affatto, lo ripeto, dai protogoni : le stesse dimensioni, lo stesso carattere del nucleo e del citoplasma, lo stesso nucleolo, gli stessi granuli siderofili.

Particolare interesse presentano le divisioni archiovocitiche. Il nucleo aumenta molto di volume pur rimanendo di forma elittica ; la profase ha durata molto lunga ; il filamento profasico ha uno spessore rilevante ; le anse dello spirema sono orientate verso il nucleolo (Tav. I, fig. 10). Contemporaneamente all'ingrossamento del filamento avviene un curioso fenomeno che non credo sia stato descritto per altre specie. Quando lo spirema si

è formato, il nucleolo da sferoidale diventa discoidale (Tav. I, figg. 8, 9 e 10), si trasforma quindi in una lamina triangolare a lati rotondeggianti di aspetto caratteristico. Lo spessore di questa lamina è molto ridotto, specialmente sugli orli dove è trasparente. La lamina si addossa alla parete nucleare e sparisce quando si dissolve la membrana nucleare.

Un comportamento diverso fra parte centrale e parte superficiale nel nucleolo è stato visto dallo CHAMPY (1913) nei nucleoli dei protogoni degli Anfibi.

Di solito le trasformazioni del nucleolo avvengono durante lo spirema fitto, e solo raramente lo si osserva ancora sferico fin quasi all'epoca della scomparsa della membrana.

Lo stadio di « spirema lasso » negli archiovociti è molto duraturo : i cromosomi isolati sono dapprima leggermente irregolari ed allungati, diventano poi più regolari e più contratti, con aspetto caratteristico, poichè i cromosomi appariscono quasi sferici. Un tale comportamento dei cromosomi era già stato notato nelle divisioni protogoniali di *Entosphoenus* dall'OKKELBERG (1921). La metafase si presenta del tutto normale.

Nell'anafase si notano a volte uno o due cromosomi che migrano ai poli prima della massa. Peraltro questo fatto non sempre avviene in tutti gli archiovociti e lo si può osservare indifferentemente in divisioni di protogoni, di ovogoni o di spermatogoni. Un singolare comportamento presentano i granuli siderofili : nell'archiovocita, durante l'anafase, si trovano variamente distribuiti fra il citoplasma e l'area del fuso (Tav. I, fig. 11) ; e poi si ripartiscono fra le due cellule figlie. Poichè il loro numero non aumenta, per le ripetute divisioni ovogoniali, i granuli siderofili diminuiscono rapidamente di numero, e si riducono a soli due o tre per ciascun ovocita.

OVOGONI, LORO MOLTIPLICAZIONE E DEGENERAZIONI.

Generalmente sembra che nelle divisioni archiovocitiche alla formazione di due nuclei non tenga dietro una corrispondente divisione del corpo cellulare. A dir vero la divisione si effettua, ma le due cellule rimangono fra loro intimamente aderenti. Se infatti si trattano i nidi di ovogoni con acido acetico diluito, ap-

paiono netti i contorni cellulari (GRASSI, 1919); i quali appaiono netti anche nei nidi degeneranti.

Gli ovogoni in riposo sono simili nel loro aspetto generale agli archiovociti, sono peraltro riuniti in nidi. I nuclei sono rotondeggianti, lievemente ovulari, con cromatina granulare, polverulenta, piuttosto scarsa; hanno un grosso nucleolo sferico, unico.[1] Gli ovogoni si dividono rapidamente; è quandi facile incontrare in essi stadi profasici (Tav. I, figg. 12 e 13). Il nucleolo mantiene più lungamente che nelle divisioni archiovocitiche la forma sferica, ma infine si trasforma anche in questo caso in una laminetta triangolare. Quando un nido di numerosi ovogoni è in profase, è facile confonderlo con un nido di ovociti in auxocitosi.[2]

Un carattere distintivo sicuro è la presenza della laminetta triangolare residuo del nucleolo che è specifica delle divisioni archiovocitiche e ovogoniali. Negli stadi dell'auxocitosi il nucleolo non appare mai modificato.

I due primi ovogoni originatisi dalla divisione dell'archiovocita sono ancora di rilevante grandezza; dopo tre o quattro divisioni le dimensioni diminuiscono fino a un *minimum* che viene presto raggiunto. Anche nei nidi formati da un gran numero di ovogoni, questi non scendono mai al disotto di tali dimensioni. Nei nidi i nuclei dopo le ultime divisioni misurano circa $6 \times 7\,\mu$ con nucleolo di $1\,\mu$. Si noti che nella linea maschile, nelle corrispondenti divisioni degli spermatogoni secondari, la diminuzione di volume dei nuclei continua molto oltre queste dimensioni. Come in quasi tutte le specie studiate, il numero delle divisioni ovogoniali è variabilissimo; nella maggioranza dei casi varia da tre a sei, compresa la divisione archiovocitica.

Le degenerazioni, delle quali ho parlato a proposito dell'ovogenesi giovanile, colpiscono in varie epoche anche le cellule della linea genitale femminile. È facile trovare profasi ovogoniali in vari gradi di degenerazione. Il nucleo degenera generalmente durante lo stadio di « spirema fitto ». Esso si contrae; il cario-

---

[1] In molti Anfibi, mentre gli archiovociti hanno un grosso nucleolo, gli ovogoni lo perdono. Ad esempio, in *Salamandrina perspicillata* gli ovogoni sono privi di nucleolo (LEVI, 1905).

[2] A giudicare dalle figure, credo che il GRASSI (1919) molte volte parli di « nidi di sinapsi » quando si tratta ancora di profasi ovogoniali.

plasma diventa più scuro (più colorabile con ematossilina ferrica); i nastri dello spirema si fanno più grossi, meno netti, con contorni un po' sfumati (Tav. I, fig. 21); il processo continua portando alla formazione di un nucleo picnotico. Il citoplasma di ciascun ovogonio appare bene isolato. Il nido da rotondo diventa allungato e si riduce a una fessura. Tali degenerazioni colpiscono con maggior frequenza gli ovogoni delle ultime generazioni. Riguardo a questi processi degenerativi l'anguilla si comporta diversamente dagli Anfibi. Il LEVI (1905) descrive infatti un altro comportamento negli ovogoni degeneranti di *Salamandrina perspicillata*: «il primo segno di degenerazione che colpisce gli ovogoni è la disgregazione del citoplasma.... la cromatina diventa poco colorabile».

OVOCITI PRIMA DELL'INIZIO DELL'AUXOCITOSI.

Ovociti in stasi. — Contrariamente a quello che il RÜCKERT avrebbe osservato nei Selaci, cioè, che dalle profasi ovogoniali direttamente si passerebbe a figure auxocitarie, esiste nell'anguilla la ricostruzione nucleare dell'ovocita e un periodo di riposo. L'anguilla da questo punto di vista si avvicina agli Anfibi (LEVI, 1905; STIEVE, 1921, ecc.). Gli ovociti in riposo non si distinguono dagli ovogoni delle ultime generazioni; si possono identificare con sicurezza solo quando inizia l'aumento di volume e compaiono le prime trasformazioni nucleari. Gli ovociti in riposo presentano un grosso nucleolo e scarsa cromatina granulare, con a volte qualche granello più grosso (Tav. I, fig. 16).

Le dimensioni degli ovociti in stasi sono le medesime degli ultimi ovogoni: nucleo $7 \times 6 \mu$, nucleolo 1μ.

Nidi di ovociti. — La formazione di nidi di ovociti più o meno voluminosi è un fenomeno caratteristico di quasi tutte le specie dei bassi Vertebrati; l'HOFFMANN ne aveva negata l'esistenza negli Orodeli; il LEVI (1905) la trovò invece in *Salamandrina perspicillata*. Negli Anuri la formazione di nidi è molto più appariscente (BOUIN, 1900; BECCARI, 1925). Nei Ciclostomi pure esiste (OKKELBERG, 1921).

Mentre la formazione dei nidi è un fenomeno generale, ciò

che varia molto secondo la specie è la tendenza a formare nidi voluminosi. Ciascun ovocita di un nido ha generalmente il medesimo grado di sviluppo, occupa nel nido uno spazio simile agli altri, e non può far prevalere il proprio accrescimento a danno degli altri ovociti. Se, come avviene molto raramente, un nucleo si trova in uno stadio di sviluppo un po' più avanzato, lo squilibrio di accrescimento si accentua sempre più, come se tutto il nutrimento destinato al nido fosse assorbito dall'ovocita maggiore. In conseguenza gli altri ovociti cessano di accrescersi e, restando integra la parete del nido, l'aumento di volume dell'ovocita maggiore trova sfogo nella regressione degli ovociti fratelli. L'epitelio follicolare dell'archiovocita, che era quello del nido, rimane ad avvolgere l'ovocita in accrescimento. I rimanenti ovociti del nido si comportano diversamente secondo che lo squilibrio sia comparso quando i loro nuclei erano ancora in stasi (cioè se l'ovocita maggiore ha iniziato l'auxocitosi prima di loro), oppure se il prevalere di un ovocita sia avvenuto quando tutto il nido era in auxocitosi. Ho potuto seguire l'ulteriore svolgimento di questi due casi. Se gli ovociti rimasti arretrati nello sviluppo erano già in auxocitosi, essi degenerano completamente e sono riassorbiti : nel nido resta allora un solo grosso ovocita che non riempie completamente la cavità del nido. Identico fenomeno deve avvenire nei Ciclostomi, come si vede da un disegno dell'OKKELBERG (1921). Se invece gli ovociti arretrati erano ancora in stasi, è molto difficile che degenerino : il loro sviluppo completamente si arresta e diminuisce forse leggermente il volume nucleare. Frattanto l'ovocita maggiore si accresce rapidamente e avvolge gli ovociti arretrati inglobandoli. I nuclei degli ovociti arretrati appaiono come inclusi citoplasmatici dell'ovocita in accrescimento (Tav. I, fig. 15). Il fatto più interessante è la mancanza di qualsiasi indizio di degenerazione di questi nuclei fino in un'epoca molto avanzata; quasi certamente essi dovranno degenerare, ma non ho potuto osservare questo fenomeno. L'ovocita più sviluppato che presentasse questi inclusi aveva una vescicola di 14×20 μ mentre i nuclei inclusi avevano un diametro maggiore di $6\,\mu$.

Il GÖTTE (1875) nel *Bombinator* credette di vedere l'origine della vescicola germinativa degli ovociti definitivi in una fusione dei nuclei del nido. È probabile che questa idea, che poi è ri-

sultata non conforme a verità, gli fosse venuta dall'osservazione di fenomeni simili a quelli che ho descritto. L'inclusione di nuclei nel citoplasma di un ovocita in accrescimento sarebbe un fenomeno, sia pur eccezionale, ma che si verificherebbe in molte specie.

Forse da collegare a questi stessi fatti è la presenza di ovociti con due vescicole, osservate nell'organo del Bidder di *Bufo viridis* dal BECCARI (1925). In questo caso ambedue le vescicole sono in accrescimento, mentre nell'anguilla una sola vescicola è in auxocitosi.

LE DIVERSE FASI DELL'ACCRESCIMENTO.

La vescicola germinativa degli ovociti dall'inizio dell'auxocitosi allo stadio di «leptotene ordinato». — Il primo inizio dei fenomeni auxocitari negli ovociti di anguilla è caratterizzato da un aumento delle dimensioni nucleari che precede la comparsa dei filamenti. Esiste perciò anche in questa specie un *primo periodo di accrescimento* precedente la *profase della prima divisione maturativa,* come ha osservato lo STIEVE (1921) negli ovociti di *Proteus.* Il nucleo dell'ovocita in stasi è di $6 \times 6 \mu$; durante il primo periodo di accrescimento diventa più voluminoso e raggiunge dimensioni di $7 \times 7 \mu$, $7 \times 8 \mu$ e $8 \times 8 \mu$; il nucleolo si mantiene sempre di 1μ (Tav. I, figg. 17 e 20). Nel nucleo, raggiunte quelle dimensioni, incomincia la formazione di un reticolo o, meglio, di un intreccio di filamenti poco colorabili, sui quali si impiantano granuli di cromatina, che nell'ovocita in riposo (Tav. I, fig. 16) e nel primo periodo di accrescimento appare polverulenta. I fili del reticolo, sottili, si fanno a mano a mano evidenti, più colorabili con l'ematossilina ferrica, e si giunge così allo stadio di leptotene (Tav. I, figg. 17 e 20).

Il nucleolo ha mantenuto la forma sferica ed è eccentrico.[1]

Non si vede più distinta la membrana nucleare, ma non saprei decidere se essa in questo stadio sia già andata in disso-

---

[1] In molti Anfibi i nucleoli spariscono e sono sostituiti da piccole masse cromatiche; ad esempio in *Salamandrina* (LEVI, 1905) e in *Proteus* (STIEVE, 1921).

luzione. Il LEVI (1905) per gli ovociti in leptotene di *Salamandrina* parla di mancanza o di poca visibilità della membrana; secondo il BOUIN, essa scomparirebbe del tutto. Nei Selaci RÜCKERT e MARÉCHAL (1904) ritengono che essa senza dubbio manchi, dato che il leptotene avviene per trasformazione diretta nell'ultima profasi ovogoniale, quando la membrana è già scomparsa.

Dal leptotene, caratterizzato dal filamento sottile ad andamento irregolare, si passa, come è stato descritto in molti animali, a uno stadio caratterizzato dalla polarizzazione dei filamenti, al *leptotene ordinato*. Le anse si orientano lungo una linea che va dal nucleo al polo opposto del nucleo [1] (Tav. I, figg. 19 e 20). In un primo tempo le singole anse decorrono isolate, poi appaiono doppie. In un nido dove, eccezionalmente, non tutti i nuclei erano allo stesso grado di sviluppo, ho potuto seguire la trasformazione dal leptotene ordinato ad anse semplici a quello ad anse doppie. La vescicola germinativa durante le varie trasformazioni leptoteniche non varia di dimensioni.

Osservo, come è stato veduto in vari altri animali, una certa variabilità nella grandezza dei nucleoli.

Degenerazioni ovocitiche nello stadio « leptotene non orientato » e nel « leptotene orientato » e presunte forme di sinapsi. — Nel nucleo il periodo, direi, culminante della maggior sensibilità ai processi degenerativi è al principio dell'auxocitosi, nei vari stadi di leptotene.

La comparsa e l'evoluzione di questi processi possono essere bene osservate nelle anguille verso i 27 cm., cioè quando nelle gonadi è stato sempre notato un maggior numero di degenerazioni delle cellule genitali.

Le degenerazioni del leptotene non ordinato (Tav. II, fig. 22) si distinguono dalle degenerazioni ovogoniali (Tav. I, fig. 21) per il minore spessore dei filamenti. Il fenomeno è essenzialmente lo stesso; il filamento diviene rugoso, il carioplasma scuro, il nucleo si contrae fortemente divenendo notevolmente colorabile. Con la tricromica di Flemming i filamenti del leptotene assumono un colore viola intenso mentre la massa

[1] Non ho mai riscontrato un orientamento rispetto al centrosoma.

degenerata si tinge di rosso rubino. Questa massa presenta per maggior tempo una struttura filare e deriva da un leptotene, mentre, se deriva da una profase ovogoniale, diventa subito omogenea. Di molto maggiore interesse sono le degenerazioni allo stadio di leptotene ordinato. In questo caso i filamenti si contraggono verso il polo opposto al nucleolo, formando un fitto gomitolo (Tav. II, fig. 23); solo alcune anse mantengono la posizione originaria. L'aspetto che ne risulta è quello delle tipiche sinapsi descritte da molti autori; le anse rimaste nella loro primitiva posizione danno la falsa immagine che ha fatto pensare al distrigo di anse da un gomitolo. Ho trovato tutti gli stadi possibili che da queste formazioni portano alla completa degenerazione; mentre dal leptotene ordinato l'evoluzione normale della vescicola germinativa segue tutt'altra via.

La maggioranza degli autori non attribuisce più grande importanza al fenomeno della sinapsi, che si considera dovuto a una maggiore sensibilità del contenuto nucleare di fronte ai reagenti impiegati per la fissazione. Secondo il Levi (1927), essa non è che l'espressione di una forte imbibizione del nucleo. Pare certo che sotto il nome di « sinapsi » siano stati riuniti casi diversi di alterazione nucleare. Alcune sinapsi sono degenerazioni di leptoteni orientati e di pachiteni, altre invece di nuclei all'inizio della formazione dei filamenti. Questi due fenomeni sono stati chiaramente identificati dal Beccari (1925) nello studio dell'ovogenesi bidderiana del *Bufo viridis*. Egli nota l'esistenza di forme sinaptiche sia nel primo che nel secondo periodo di accrescimento. La sinapsi avviene sia quando i nuclei hanno ancora struttura reticolare, sia quando in essi sono presenti filamenti leptotenici o diplotenici.

Secondo il Beccari inoltre una parte di sinapsi dipenderebbe da normale sensibilità di fronte ai reagenti del contenuto nucleare in un dato momento dell'evoluzione auxocitaria e da un artefatto di tecnica; un'altra parte invece sarebbe indizio di disagio in cellule destinate a morire.

Io credo che nell'anguilla le figure sinaptiche che si incontrano in stati leptotenici siano tutte dipendenti da processi degenerativi. L'ammassamento dei filamenti avviene dal lato opposto al nucleolo. Anche in vescicole germinative di 11 μ, in stadi diplotenici, si nota spesso una contrazione dei filamenti

da un lato della membrana nucleare; il nucleolo si trova fra le maglie dei filamenti contratti. Secondo me quest'ultima specie di sinapsi dipende sempre soltanto da particolare sensibilità del nucleo, perchè compare solo se l'azione del fissativo non è stata perfetta.

Dal leptotene ordinato al pachitene e al diplotene. — Gli ovociti durante il leptotene ordinato sono ancora accolti in un nido. Questo si disgrega quando i nuclei hanno raggiunto lo stadio di pachitene o al principio del diplotene; non esiste un'epoca fissa nella quale avvenga il fenomeno. Credo che la scomparsa del nido sia dovuta all'accrescimento rapido dell'ovocita durante gli stadi pachitene e diplotene.

In un nido che si trovava in condizioni eccezionali ho potuto seguire l'accollamento delle metà delle anse sottili. In un nucleo del nido i filamenti erano strettamente uniti, salvo in alcuni punti dove si vedeva la scissura; in un altro la fusione era completa; in altri ancora il filamento era unico, grosso, e presentava le caratteristiche del pachitene. Il progressivo aumento della vescicola germinativa mi ha dato modo di stabilire come avvenga realmente la successione dei vari stadi descritti.

Il pachitene presenta filamenti di struttura granulare fin dal suo primo formarsi. Però negli stadi più avanzati questa struttura appare più evidente. Osservando con ingrandimento molto forte il filamento pachitenico (Tav. II, fig. 24), si vede che i granuli sono tutti delle medesime dimensioni e di forma piramidale. La base di ogni granulo si applica sull'apice del successivo. I granuli sono fortemente basofili.

La grandezza media del nucleo allo stadio di pachitene è circa $9 \times 9\,\mu$; esistono peraltro, più raramente, nuclei molto più piccoli ($7 \times 7\,\mu$). Il nucleolo è cresciuto di volume, ha un diametro di circa $1{,}5\,\mu$, a volte di $2\,\mu$. Nelle anguille nidi di ovociti che siano sicuramente nello stadio di pachitene si incontrano molto raramente.[1]

Ciò contrasta col fatto che con grandissima frequenza si in-

[1] Dato che i nuclei in pachitene possono essere relativamente piccoli, è facile a volte prendere per pachiteni profasi ovogoniali nelle quali il nucleolo non sia stato ancora riassorbito oppure leptoteni non ordinati con incipiente degenerazione nei quali i filamenti ingrossano notevolmente.

contrano invece stadi leptoteni orientati ed incipienti diploteni (Tav. II, fig. 25). È verosimile, io penso, che durante l'auxocitosi dell'ovocita di anguilla, nella maggioranza dei casi, non si passi per lo stadio di pachitene, ma che dal leptotene orientato si arrivi direttamente al diplotene. Solo in alcuni casi i filamenti si accollerebbero, formando il pachitene e quindi si ridistaccherebbero per dare il diplotene. Nell'evoluzione normale dell'ovocita di anguilla, rispetto a quanto avviene in tanti altri animali, si avrebbe un abbreviamento. Convalida la supposizione il reperto di frequenti nuclei in diplotene di mediocre dimensione.

Del resto non è detto che l'ovogenesi debba essere sempre inquadrata in regole immutabili; per diverse vie forse si giunge a medesimi risultati, sia in specie diverse, sia nella stessa specie.[1]

Gli ovociti in diplotene sono già, quasi sempre, isolati; mentre solo a questo momento compare un involucro follicolare individuale e completo. Nel nucleo i filamenti sono doppi (Tav. II, figg. 26 e 27) ad andamento parallelo, intensamente colorabili con ematossilina ferrica; anche rispetto alle altre colorazioni si comportano come fortemente basofili; sono sottili irregolari; a volte presentano noduli e brevi spine. Le irregolarità di contorno dei filamenti sono dapprima appena accennate (Tav. II, fig. 26) e si accentuano solo fortemente in seguito (Tav. II, fig. 27). I nuclei con filamenti diplotenici hanno un diametro di 10 μ circa di media e un nucleolo di 3 μ.

Frattanto un caratteristico mutamento si nota nel citoplasma dell'ovocita. Mentre il citoplasma degli ovociti nei nidi e degli ovociti in pachitene, appena incominciato l'isolamento, è molto chiaro, poco colorabile con i colori di contrasto, durante i primi stadi diplotenici assume le caratteristiche che ha in tutti gli ovociti in accrescimento, diventa cioè granuloso, intensamente colorabile dai colori di contrasto e lievemente basofilo.

Comportamento della vescicola germinativa degli ovociti durante il 2° periodo di accrescimento. — Come è noto, il punto più discusso dell'ovogenesi nei Pesci e negli Anfibi è il trapasso

[1] Anche il BECCARI (1925) dubita che nel *Bufo viridis* l'ovogenesi avvenga sempre secondo il rigoroso succedersi degli stessi stadi.

dei cromosomi dallo stadio diplotenico agli stadi precedenti la prima divisione maturativa.

CARNOY e LEBRUN (1897-98) sostennero che la continuità dei filamenti cromosomici durante l'accrescimento dell'ovocita viene interrotta. Si avrebbe, secondo questi autori, dopo il diplotene, una completa polverizzazione del contenuto nucleare accompagnata da un differente contegno del contenuto nucleare di fronte ai coloranti. Solo tardivamente avrebbe luogo una costituzione di cromosomi. Contrari all'opinione del CARNOY sono BÜCKERT (1889), BORN (1895), MARÉCHAL (1904), LEVI (1905), STIEVE (1921) ed altri, i quali hanno esaminato accuratamente l'evoluzione della vescicola germinativa dei Selaci e di Anfibi.[1] Il LEVI (1905) fa notare come la causa delle divergenze fra i vari autori derivi forse dalla diversità dei metodi di tecnica istologica adoperati. Esaminando molte specie di Anfibi e adoperando diversi fissativi, egli trasse il convincimento che esiste, sia pur nascosta e alterata, una continuità tra i filamenti del diplotene e i cromosomi che appaiono poco avanti la prima divisione maturativa.

Secondo lo STIEVE (1921), nel secondo periodo di accrescimento i filamenti apparirebbero confusi in un reticolo di granuli ossicromatici; i granuli poi diverrebbero basofili, e si differenzierebbero di nuovo filamenti cromosomiali con appendici piumate caratteristiche degli ovociti.

Ho voluto seguire il più accuratamente possibile lo sviluppo degli ovociti di anguilla in questo periodo. Ho adoperato tre fissativi diversi: il Carnoy-Lebrun, il Sanfelice e il « Susa ». Mentre con il primo il nucleo appare in determinate epoche completamente polverizzato, gli ovociti di uguali dimensioni dello stesso animale fissati in « Susa » e meglio ancora in Sanfelice permettono di vedere evidentissimi i filamenti cromatici. Le seguenti descrizioni si riferiscono a materiale fissato in Sanfelice e colorato con il metodo Pianese o con ematossilina ferrica. In preparati colorati con ematossilina ferrica e differenziati a lungo, si può benissimo, come ha trovato il LEVI (1905), distinguere dalla varia intensità del colore l'affinità verso i colori

---

[1] MARÉCHAL (1905) anche di Teleostei.

acidi o basici dei componenti nucleari. Descrivo una serie di vescicole germinative scelte in modo da mostrare il graduale svolgimento del processo.

Ovocita con vescicola germinativa di 18 μ di diametro (Tav. II, fig. 28). — Oltre al grosso nucleolo centrale sono apparsi dei nucleoli minori periferici che quasi sicuramente hanno origine dal primo. Si nota ancora molto chiaramente l'andamento diplotenico dei filamenti (filamenti paralleli), ma i filamenti di ciascuna coppia, pur rimanendo paralleli, si sono molto distanziati. Essi sono aumentati di grossezza e divenuti sempre più irregolari per la presenza di noduli, rugosità, spine, fortemente colorabili con la ferrica. Attorno ai filamenti è una zona di piccoli granuli di diversa grandezza, fittissima nell'immediato contatto con i filamenti, più rada, allontanandosi da essi.

I granuli sono pochissimo colorabili con l'ematossilina ferrica; con il metodo Pianese appaiono colorati in rosso.

Ovocita con vescicola germinativa di 30 μ (Tav. II, fig. 29). — Il fenomeno più interessante per ovociti di queste dimensioni è la scomparsa assoluta del parallelismo fra i filamenti. L'anguilla riguardo a questo fenomeno si comporta al contrario del *Pristiurus*, dove il Rückert afferma persistere il parallelismo fra i filamenti durante tutto il periodo dell'accrescimento fino all'espulsione dei globuli polari.

I cordoni hanno andamento contorto, sovrapponendosi e accavallandosi e formano una grossa rete (senza anastomosi però) a maglie larghe. È molto aumentata la quantità dei granuli acidofili che invadono tutto lo spazio compreso fra le maglie della rete. Il comportamento riguardo ai colori è sempre il medesimo. Il grosso nucleolo è centrale; sono aumentati di numero i periferici. La membrana della vescicola germinativa diventa sempre più nettamente visibile.

Ovociti con vescicola germinativa dai 30 ai 40 μ. — Presentano un forte incremento delle sostanze nucleari. Sia i nucleoli periferici che il centrale sono molto ingrossati; i periferici sono di dimensioni molto diverse ed è probabile che i più piccoli derivino da condensazione dei granuli sparsi o da diretta trasfor-

mazione della cromatina dei cordoni. Tutta la vescicola è riempita di granuli finissimi acidofili. I cordoni sono sempre più alterati e i grossi noduli, zolle e granuli, che li costituiscono, tendono gradatamente a mutare la loro affinità tintoriale : assumono infatti con minore intensità l'ematossilina ferrica.

Ovocita con vescicola germinativa di 55 μ (Tav. II, fig. 30). — Trasformazioni molto più forti subiscono gli ovociti in questa epoca. Le grosse tuberosità dei cordoni si sono trasformate in granuli che si sono sparsi omogeneamente in tutta la vescicola e i cordoni si sono ridotti a esili filamenti granulosi, assumendo anch'essi colori acidi. I granuli che compongono i filamenti sono più grandi di quelli del fondo.[1]

In molti punti più che di filamenti si può parlare di granuli disposti secondo linee, perchè non si vede sostanza interposta. Lo stesso fatto dell'allineamento è però indice di una continuità che deve esistere nel vivente.

I nucleoli periferici sono aumentati in numero e in volume ; esiste sempre un grosso nucleolo centrale. Il nucleolo centrale appare zonato e presenta al centro dei vacuoli caratteristici ; esso appare, nei miei preparati, basofilo ; i periferici in alcuni ovociti appaiono tutti basofili, in altri parte basofili, parte acidofili. I nucleoli sono circondati da una zona chiara priva di granuli acidofili.

Ovociti con vescicola germinativa di 75 μ (Tav. II, fig. 31). — Il grosso nucleolo centrale è scomparso e nella vescicola non esistono che nucleoli periferici in gran numero, di varie dimensioni, ciascuno attorniato dalla zona chiara caratteristica.

I piccoli granuli acidofili sono uniformemente sparsi nel citoplasma ; i più grossi che compongono i filamenti si distanziano fortemente fra loro, pur rimanendo allineati. Essi sono inoltre aumentati di volume ed appariscono del tutto acidofili. Da un'osservazione superficiale sembrerebbe che i filamenti si fossero completamente disgregati ; ma, seguendo l'andamento dei gra-

---

[1] In materiale fissato in Carnoy-Lebrun e a volte anche in Flemming, le vescicole hanno già un aspetto del tutto omogeneo (nucleo polverulento) evidentemente falso.

nuli, si vede assai chiaramente che non si tratta di vera polverizzazione, bensì di un semplice distanziamento dei granuli. I singoli granuli o sono, come è più probabile, uniti materialmente da una sostanza che la tecnica o non rivela o distrugge, oppure, pur essendo materialmente distaccati, sono potenzialmente uniti in quanto rimangono in mutua coordinazione fino al ritorno della continuità materiale.

Nelle anguille da me esaminate non sono riuscito a trovare ovociti con vescicola superiore a 80 μ[1] e non ho potuto seguire quindi ulteriormente l'accrescimento dell'ovocita.

Riprendo la descrizione degli stadi seguenti all'ultimo descritto, basandomi sugli ovociti di *Muraena helena* nella quale ho riscontrato un accrescimento degli ovociti pressochè uguale a quello dell'anguilla. Anche le dimensioni degli ovociti nei vari stadi sono circa le stesse.

Ovocita di Muraena helena *con vescicola germinativa di* 77 μ (Tav. II, fig. 32). — I granuli minuti diffusi uniformemente nella vescicola germinativa sono diminuiti di numero, aumentati di grandezza e si colorano più intensamente con l'ematossilina ferrica, assumono cioè un comportamento lievemente basofilo. I granuli maggiori, costituenti i filamenti, si sono ravvicinati, si tingono intensamente con l'ematossilina ferrica ed emettono lunghi filamenti sottilissimi. Si inizia evidentemente la formazione dei cromosomi piumati. Il comportamento dei nucleoli è simile a quello che si osserva nello stadio precedente negli ovociti di anguilla. Nella *Muraena* manca la zona chiara attorno ai nucleoli.

Evidentemente questo stadio è molto distanziato dall'ultimo di anguilla. Vi deve essere uno stadio intermedio caratterizzato dalla mutata affinità tintoriale dei granuli, sia di quelli sparsi, che in quelli ordinati in filamenti : nel quale i granuli dei filamenti appariscono tuttora distanziati. Questo stadio intermedio mancante, dovrebbe corrispondere a quello del « reticolo basicromatico » dello Stieve (1921).

---

[1] Il Grassi in anguille dello Stretto di Messina ha potuto trovare ovociti di mm. 0,31 di diametro, mentre il diametro massimo di quelli del materiale da me osservato era di mm. 0,20 con nucleo di 80 μ.

Ovocita di Muraena helena *con vescicola germinativa di 110 μ* (Tav. II, fig. 33). — È questo lo stadio più avanzato che ho potuto trovare nella *Muraena helena*. Le differenze maggiori di questi ovociti da quelli a diametro nucleare di 77 μ riguardano il citoplasma (dimensioni generali dell'uovo, formazione di vitello, membrana radiata, ecc.). Pur tuttavia sono avvenute modificazioni anche nel nucleo. I cromosomi piumati sono molto più netti e si raccolgono verso una determinata zona della vescicola germinativa.

È verosimile che l'ulteriore svolgimento del fenomeno maturativo avvenga come negli altri animali, nei quali è ormai ben noto.

INCLUSI CITOPLASMATICI DURANTE L'ACCRESCIMENTO.

Negli ovociti si osserva un primo cambiamento del citoplasma quando questi in pachitene e diplotene si isolano dal nido cellulare.[1]

Il plasma diventa granuloso e basofilo. Contemporaneamente i granuli siderofili, che per le ripetute divisioni ovogoniali si sono ridotti a uno o due, al massimo tre per cellula, aumentano fortemente di volume e si fondano in unico corpo (a volte in due) che presenta caratteristiche identiche ai granuli siderofili (Tav. III, fig. 34).

Questo *corpo siderofilo* ha forma varia, ovoidale, a nastrino, allungato, a volte raggiunge dimensioni considerevoli.

Il citoplasma non gli aderisce, ma ne è separato da una stretta fessura come se il corpo fosse racchiuso in un vacuolo.

Molti autori hanno descritto formazioni simili : ad esempio l'OKKELBERG (1921) in *Entosphoenus*. Egli vede questi inclusi nei protogoni e nei giovani ovociti e li denomina « nuclei vitellini della King ».[2]

Quando la vescicola germinativa degli ovociti ha raggiunto 40 o 50 μ di diametro, il corpo in questione più non si vede,

---

[1] Solo eccezionalmente il disfacimento del nido avviene prima del pachitene.

[2] Queste formazioni non hanno a che vedere, io credo, con il nucleo vitellino che deriva dalla centrosfera. Non ho mai trovato il nucleo vitellino di ovociti di anguille e di murene. Del resto, già CUNINGHAM (1898) ne segnalava l'assenza in *Conger*.

compaiono invece altre formazioni che già furono descritte dallo Champy (1923) per la prima volta nei Teleostei, sotto il nome di « inclusi filamentosi ».

Lo Champy ha verificato la presenza di queste formazioni in 40 specie di Teleostei, e fra queste figura anche l'anguilla. Gli inclusi filamentosi si vedono soltanto in ovociti di media grandezza nei quali non è ancora cominciata la vitellogenesi; si mettono in evidenza con qualsiasi fissativo (meglio il Bouin, secondo Champy) purchè segua la colorazione con ematossilina ferrica o con safranina.

Secondo lo Champy i filamenti si ramificherebbero ripetutamente assottigliandosi, dando rami sempre più sottili. Io credo che queste formazioni si comportino in maniera diversa. Esisterebbero, secondo me, alcuni *filamenti base,* unitari, sottilissimi (Tav. III, figg. 35-37), corrispondenti per grandezza a quelli degli estremi rami delle presunte ramificazioni. Essi sarebbero molto lunghi ed avrebbero un decorso arcuato, mai angoloso.

Due di questi filamenti primari, accollandosi per un certo tratto, darebbero origine a un filamento secondario di spessore doppio. Il filamento secondario può, in un determinato tratto, accollarsi a un altro filamento secondario o a uno primario, dando origine rispettivamente a un filamento terziario, e così via, fino ad ottenersi brevi filamenti di ordine assai elevato, seguiti da tutte le serie minori. Si viene così a una formazione che sembra ramificata ma che in realtà è piuttosto plessiforme.[1]

Lo Champy crede che questi inclusi rientrino nella categoria delle tante formazioni citoplasmatiche dotate di simili proprietà tintoriali, che sono state descritte da molti autori negli ovociti e negli spermatociti di vari animali. Egli pensa che gli inclusi filamentosi possano essere riportati o all'apparato mitocondriale o a quello reticolare di Golgi.

Formazioni di questo tipo furono trovate negli ovociti di uc-

---

[1] La falsa interpretazione data dallo Champy è sicuramente dovuta ai fissaggi adoperati. Le figure che si ottengono con il Sanfelice sono indubbiamente superiori a quelle ottenute fissando in Bouin; esse permettono di vedere in alcuni casi la natura plessiforme delle formazioni descritte. Per quanto riguarda le proprietà tintoriali, ho verificato che esse corrispondono a quelle ricordate dallo Champy.

celli. « Negli ovuli di pollo — scrive il D'HOLLANDER (1902) — in cui la massa vitellogena ha un aspetto denso e si continua con il vitello circostante, si notano in questa massa filamenti straordinariamente sottili, fortemente colorabili dalla safranina. I filamenti che si possono seguire per un lungo percorso portano qua e là fini granulazioni.... a volte dopo un lungo percorso si ripiegano per ritornare al punto di origine o si arrotolano fra loro. In sezione appaiono allora come piccoli anelli, anse più o meno aperte, piccoli bastoni ricurvi ».

Formazioni somiglianti erano state trovate negli ovociti di donna da VAN DER STRICHT (1898) e negli spermatociti, ma hanno allora un'altra forma, a bastoncino o a semiluna : furono descritti dallo HEIDENHAIN (1900) negli spermatociti di *Proteus* sotto il nome di pseudo-cromosomi, dato il loro comportamento di fronte ai coloranti.[1]

Al TERNI (1914) [2] si deve uno studio accurato del comportamento di queste formazioni, che egli chiama « dittosomi »,[3] negli spermatociti di *Spelerpes fuscus*. Forse formazioni del medesimo tipo (in senso lato) possono esistere anche nelle cellule somatiche, cartilaginee, epitelio intestinale, degli ureteri, ecc. (HEIDENHAIN, 1900).

Il PARAT (1924) non ammette come costituenti morfologici fondamentali del citoplasma che mitocondri e vacuoma (vacuoli colorabili con il rosso Congo). Il reticolo di Golgi non sarebbe una struttura vivente, ma solo un artefatto della precipitazione delle sostanze metalliche del vacuoma. Questa opinione è stata molto criticata, e prima di stabilire un'identità fra reticolo di Golgi e vacuoli colorabili con il rosso Congo, occorrono ulteriori ricerche. Il reticolo di Golgi può essere visto in vivo senza colorazioni (AVEL, 1925) nelle cellule genitali maschili. Il PARAT in questo caso pensa che si tratti di condriosomi modificati e dà loro il nome di « lepidosomi ». In tutti i casi in cui i dittosomi sono visibili in vivo (uova di *Carcinus*, ecc.) il PARAT considera

---

[1] PERRONCITO (1910) ha trovato simili formazioni negli spermatociti di *Paludina vivipara* ed ha dimostrato che derivano dalla frammentazione di un primitivo reticolo.

[2] Rimando a questa memoria per una più completa bibliografia su questo argomento.

[3] Dittosomi è il nome che la maggioranza degli autori dà a questi inclusi degli ovociti e degli spermatociti.

i dittosomi come condrioma, sia perchè si colorano con il verde Janus, sia perchè si mettono bene in evidenza con i metodi mitocondriali e con i metodi per i lipoidi, sia perchè anneriscono poco con la impregnazione argentica.

Il comportamento chimico dei dittosomi (per il momento adopero questo termine in senso lato) può non differire in alcuni casi da quello dei mitocondri, ma non sempre. Molte volte non è necessario usare metodi mitocondriali per mettere in evidenza i dittosomi; a volte poi i dittosomi non si colorano affatto con il verde Janus. HIRSCHLER (1917), VOINOV (1928) e WEINER (1930) hanno osservato i dittosomi in vivo, ma non sono riusciti a colorarli con il verde Janus.

Secondo WEINER, il comportamento con l'osmio e l'evoluzione morfologica proverebbero che i dittosomi non sono altro che l'apparato reticolare di Golgi.[1] Il WEINER ha fatto accurate ricerche su queste formazioni negli ovociti di due lombrici. Nel caso particolare degli ovociti di queste due specie parrebbe effettivamenente che i dittosomi fossero omologhi al reticolo di Golgi, per quanto VOINOV (1928) ritenga che dittosomi e reticolo di Golgi sono due formazioni del tutto diverse.

Se anche l'aspetto morfologico in qualche caso appare simile, le diverse proprietà microchimiche autorizzano ad asserire che le formazioni descritte dal WEINER, che sembrano omologhe al reticolo di Golgi, non hanno niente a che vedere con gli inclusi filamentosi degli ovociti dei Teleostei.

La possibilità di colorire il reticolo di Golgi con metodi mitocondriali sembrerebbe cosa ormai accertata, sia che si tratti dell'intero reticolo (BALLOWITZ, 1900; TSCHASSOVNIKOV, 1929; ALESSANDROV, 1929) sia che si tratti di parti di esso (HARVEY, 1925; GATEMBY, 1917; KARPOWA, 1925; WEINER, 1925), ma non credo che si possa ammettere una persistenza dell'apparato mitocondriale o di formazioni di natura simile quando si usano liquidi fissativi ricchi in acido acetico, come è il caso dei miei preparati, nei quali si vedono gli inclusi filamentosi.

Confrontiamo infine gli inclusi filamentosi con formazioni sicuramente mitocondriali che morfologicamente alquanto vi

[1] Il primo a dare ai dittosomi questo significato è stato il PERRONCITO (1910) in *Paludina vivipara*.

somigliano. De Castro (1918) descrive negli ovociti di alcuni Teleostei un condrioma filamentoso molto diverso da quello descritto negli stessi ovociti da altri autori. Questo condrioma filamentoso rassomiglia un poco ai filamenti in questione, specialmente quando è molto sottile, ma il suo comportamento di fronte ai liquidi fissativi è nettamente diverso.

Hasselet (1929) ha trovato un condrioma reticolato nelle cellule serigene della *Friganea*, nelle cellule pancreatiche e nelle cellule dell'epitelio duodenale del tritone; ma anch'egli ha usato come fissativi liquidi senza acido acetico.

Riepilogando, da queste numerose osservazioni, più o meno discordanti, si può notare:

1) che sono stati veduti condriomi filamentosi o reticolari i quali un po' assomigliano agli inclusi filamentosi, ma che da essi diversificano per l'intima struttura e le proprietà microchimiche (condrioma filamentoso di De Castro e di Hasselet);

2) che sono stati d'altra parte descritti corpi filamentosi a bastoncello notevolmente diversi dai mitocondri, ma come quelli visibili solo con tecniche mitocondriali o a fresco, i quali non sarebbero che uno stato particolare del reticolo di Golgi (corpi di Weiner);

3) che si conoscono infine corpi simili ai precedenti, i dittosomi di Perroncito, che con il reticolo di Golgi non avrebbero a che fare (Voinov).

Io credo che a nessuna di queste formazioni debbano essere riferiti gli inclusi filamentosi degli ovociti dei Pesci teleostei. Forse a questi assomigliano soltanto formazioni di aspetto simile descritte negli ovociti di Rettili, Uccelli e Mammiferi.

Un fatto va messo in evidenza: l'identità di comportamento degli inclusi filamentosi con i granuli o corpi siderofili, sia di fronte ai fissativi, sia di fronte alle colorazioni. Si aggiunga che, quando si osservano i filamenti, non si riscontra più il corpo o i corpi siderofili, i quali poco prima di scomparire prendono forme svariate con prolungamenti e frammentazioni. Una sola ipotesi sembra possibile: che gli inclusi filamentosi derivino dai corpi siderofili. Resta peraltro da chiarire, nei confronti di altre formazioni citoplasmatiche meglio note, il valore morfologico e funzionale sia degli uni che degli altri.

OVOGENESI ABBREVIATA.

Il protogonio e l'archiovocita possono trasformarsi direttamente in ovocita senza passare per lo stadio di ovogonio e senza che avvengano divisioni ovogoniali.

Casi di trasformazione diretta di protogoni in ovociti sono stati descritti sia nell'ovaia che nei testicoli di Pesci e Anfibi. Cito i casi più interessanti.

Lo CHAMPY (1923) ha descritto una evoluzione oviforme dei protogoni nel testicolo di «*Cobitis barbatula*» e altre specie.

Appena si inizia la differenziazione sessuale negli avanotti di *Salmo irideus*, si trovano secondo il MRSIC (1923) cellule germinali di rilevante grandezza simili a ovociti che derivano direttamente dai protogoni; peraltro esse sono destinate in seguito a degenerare.

Nell'ovaia di *Girardinus reticulatus*, accanto alla formazione dei nidi, WEISHAUPT (1925) vede una trasformazione diretta di archiovociti in ovociti.

Per ciò che riguarda gli Anfibi CHAMPY (1913) ha descritto numerosi esempi di evoluzione ovocitica degli spermatogoni primitivi in Anuri ed Urodeli ed il BECCARI (1925) crede che anche nell'organo del Bidder di *Bufo viridis* alcuni gonociti assumano direttamente il carattere di ovociti senza passare attraverso lo stadio di ovogoni.

Sono già stati segnalati fatti di questo genere nell'anguilla? «Soltanto quando incomincia l'immagazzinamento dei prodotti metabolici — dice il GRASSI (1919) — la determinazione dell'ovocita sembra sicura; ma con questi ovociti si trovano facilmente altri elementi che, sebbene privi di detto accumulo, si collegano ad essi con tutti i gradi intermedi e perciò devono anch'essi giudicarsi ovociti. Io ritengo ovociti anche altri elementi relativamente grandi da me trovati in un'anguilla lunga cm. 15».

«In genere le cellule germinative — dice il D'ANCONA (1924) — che nelle gonadi indifferenti hanno un diametro di 7-10 μ si possono considerare in fase di accrescimento quando hanno superata questa misura».

Ma non sono riuscito a comprendere se questi autori intendono parlare di una trasformazione diretta di protogoni in ovo-

citi, oppure se si riferiscono a ovociti differenziati dagli ovogoni dei nidi; e in quest'ultimo caso, a mio parere, la struttura del nucleo e del citoplasma valgono per riconoscere lo stadio molto di più di qualsiasi considerazione di grandezza.

Qualora il GRASSI e il D'ANCONA alludessero effettivamente a trasformazioni di protogoni, essi per primi avrebbero riscontrato questa circostanza nell'anguilla. Gli stadi di passaggio di protogoni ed archiovociti ad ovociti non sono di facile riconoscimento e certamente la grandezza è un fattore da prendere in considerazione per la loro identificazione.

Osservando i miei preparati, ho più volte notato circostanze e caratteri strutturali di ovociti all'inizio del loro sviluppo che mi fanno ammettere l'esistenza nelle gonadi di anguilla di una diretta trasformazione di protogoni o archiovociti in ovociti.

Ho trovato più frequenti immagini di questa ovogenesi abbreviata nelle anguille del gruppo *B 1*, cioè negli indifferenziati che normalmente divengono maschi.

Poichè non mi risulta che il processo sia stato bene illustrato, seguirò le principali caratteristiche, mettendo in evidenza i vari stadi di trasformazione.

Da un protogonio isolato si può passare direttamente a un giovane ovocita; oppure da una prima divisione di un archiovocita può essersi formato un nido, ma prima che intervengano le divisioni ovogoniali, il nido si disfà e attorno agli archiovociti figli si dispone un follicolo, che li isola; così si formano ovociti prima ancora che nel nucleo siano incominciati processi di auxocitosi. Generalmente questi ovociti sono di volume maggiore rispetto agli ovociti normali (Tav. III, fig. 38).

I primi cambiamenti che si possono osservare nel protogonio o archiovocita, che direttamente si trasformerà in ovocita, sono specialmente a carico del citoplasma: a parità di grandezza del nucleo è aumentato innanzi tutto di volume il corpo cellulare. I granuli siderofili si fondono e ingrossano dando origine a corpi siderofili; perdura l'aspetto chiaro, translucido del citoplasma, caratteristico dei protogoni; si è costituito un follicolo che avvolge regolarmente la cellula genitale.

Nel nucleo si vedono filamenti leptotenici; il loro decorso è un po' diverso da quello che si osserva nell'ovogenesi tipica, forse per la maggior grandezza della vescicola germinativa.

La dimensione della vescicola è variabile secondo le dimensioni originarie della cellula protogoniale dalla quale deriva; ad esempio $7 \times 9 \mu$; $8,5 \times 5 \mu$. Il nucleolo è già aumentato di volume, cosa che non si verifica nell'ovogenesi normale; allo stadio di leptotene esso raggiunge circa 2μ.

Stadii pachitenici anomali. — Alcuni leptoteni presentano accenni di filamenti ordinati, ma non ho mai trovato un vero stadio di « leptotene ordinato ». Numerosi sono invece gli ovociti di questa specie in pachitene che peraltro appare non normale. Sia il nucleo che il nucleolo sono fortemente aumentati di volume (nucleo $12 \times 10 \mu$; nucleolo $3 \times 4 \mu$). Il citoplasma di questi ovociti continua ad essere perfettamente chiaro e omogeneo come quello di un protogonio, mentre ovociti delle medesime dimensioni della serie normale sono già in diplotene avanzato con citoplasma granuloso e basofilo. Nel nucleo la cromatina non è disposta in lunghi e grossi filamenti, ma in frammenti di cordone molto più grossi del normale, senza alcuna traccia di parallelismo o di fessure.

È vero che nello stadio di pachitene e al principio del diplotene, nell'ovogenesi normale, gli ovociti sono isolati, ma quasi sempre essi sono in cerchio, traccia dell'antica loro posizione nel nido. In questi casi anomali invece gli ovociti sono completamente isolati, nè esiste traccia della loro provenienza da gruppi cellulari.

Stadi diplotenici. — Negli ovociti anomali in stadio diplotene, la vescicola ha dimensioni su per giù simili a quelle di ovociti normali nello stadio corrispondente ed il citoplasma diviene granuloso come in tutti gli ovociti. L'ulteriore evoluzione avviene come nella serie normale.

ALCUNE NOTIZIE SUI MATERIALI DI RISERVA DELL'UOVO DI ANGUILLA.

Seguendo lo sviluppo dell'ovocita, quando si osservano gli inclusi filamentosi si vedono comparire nel citoplasma le prime gocce di sostanza grassa. Queste appariscono fortemente rifrangenti all'esame a fresco, precipitano l'osmio metallico e, trat-

tate lungamente con bicromato potassico, resistono all'inclusione in paraffina e si possono colorare con il Sudan III (Metodo Ciaccio). Quest'ultima proprietà è più delle sostanze lipoidee che dei grassi neutri.

Negli ovociti di anguilla più sviluppati che ho potuto esaminare (diametro cellulare 170-200 μ) l'ovocita è letteralmente ripieno di grasso e il citoplasma è ridotto a fini trabecole. Si distingue una piccola zona periferica dove il citoplasma è meglio conservato e non vi sono gocce adipose. Gocce di grasso non si osservano soltanto negli ovociti ma in tutta l'ovaia, il cui tessuto fondamentale appare come trasformato in tessuto adiposo. Il grasso tanto negli ovociti che dello stroma ovarico presenta le medesime caratteristiche tintoriali.

Il Brock (1881) aveva notato che in alcune anguille, forse impedite di migrare, l'ovaia presentava una degenerazione grassa degli ovociti, i quali infine scomparivano, lasciando al posto del follicolo una cavità.

Il Cunningam (1889) critica l'osservazione del Brock, insistendo nell'affermare che le cavità viste dal Brock non sono follicoli vuoti, ma cellule grasse perchè il grasso si è disciolto durante l'inclusione.

Per risolvere la questione, ho esaminato qualche ovaia in queste condizioni, facendo preparati al congelatore e colorando con Sudan III. Mi sono convinto che è giusta l'interpretazione del Brock. È vero che gli ovociti poggiano sopra uno strato di cellule adipose, ma è pure vero che i follicoli vuoti sono i resti di ovociti degenerati.

LA SPERMATOGENESI.

NOTIZIE STORICHE.

Un maschio di anguilla completamente maturo fu pescato dallo Schmidt presso la costa danese nel 1903; all'esame istologico presentava i tubuli testicolari rigurgitanti di spermi. Caso unico questo, giacchè nessun altro ricercatore ha trovato maschi di anguilla con testicoli completamente maturi. Le anguille dello stretto di Messina che le correnti « montanti » strappano dagli abissi hanno una divisa argentina molto più accentuata delle

comuni anguille argentine ed è facile trovare nei loro testicoli, qua e là, gruppi di spermi normali (Grassi, 1895). Molto più raramente vi sono fasci di spermi nei testicoli di anguille argentine provenienti da altre località italiane, ad esempio, da Orbetello: gli spermi in questi casi sono apparsi degenerati (Grassi, 1912). È anche facile trovare spermi degenerati in anguille argentine tenute in schiavitù in acqua dolce o marina (Grassi, 1912; Mazza, 1913).

Spermatidi e spermatociti di secondo ordine, normali, o più frequentemente degenerati, sarebbero stati visti dal Grassi sia nelle anguille di Messina che in altre ove esistono gruppi di spermatozoi. Il Grassi (1919) dice anche di aver visto spermatidi degenerati in un'anguilla gialla dove erano ovociti isolati e abbondanti nidi di spermatociti. Secondo me, si tratta di nidi leptotenici in avanzata degenerazione: i resti dei nuclei prendono allora un aspetto affusato.

Frequentemente si trovano spermatociti di primo ordine in molte anguille argentine (Grassi, 1919). Nelle figure del lavoro del Grassi si osservano nidi di pochissime cellule genitali e in alcuni casi probabilmente non si tratta di spermatociti, ma di profasi spermatogoniali.

Comunque, è da considerare accertata l'esistenza di spermatociti di primo ordine nelle anguille che scendono al mare (Grassi, 1919; Mazza, 1906).

Molte volte nelle anguille argentine mancano completamente spermatociti in auxocitosi e i cordoni risultano ancora formati esclusivamente di spermatogoni (Brock, 1881; Grassi, 1919).[2]

Le mie ricerche non aggiungono molto a quelle dei precedenti autori per ciò che riguarda il processo spermatogenetico. Ho incontrato le medesime difficoltà di raccolta di materiale adatto, e quindi mi sono trovato nella medesima impossibilità di seguire il completo ciclo evolutivo delle cellule genitali maschili.

Pertanto riporto del ciclo spermatogenetico quello che parzialmente mi è stato possibile di riconoscere.

---

[1] Il Freud (1877) descriveva per primo nidi di piccole cellule con nuclei senza nucleolo, di aspetto granuloso. Secondo Brock (1881) si tratta in questo caso di spermatociti; secondo me, piuttosto di nidi di spermatogoni secondari in profase.

SPERMATOGENESI NORMALE.

Spermatogoni primari. — Gli spermatogoni primari hanno origine dai protogoni indifferenziati che si sono divisi ripetutamente.

Le cellule derivate da queste divisioni appaiono sempre completamente isolate. Il ritmo delle divisioni è relativamente lento e quindi le cellule figlie, prima di dividersi, hanno potuto aumentare di nuovo di volume. Solo durante la mascolinizzazione subitanea, il ritmo della cariocinesi aumenta e si hanno allora cellule di dimensioni un po' minori, ma sempre isolate.

Gli spermatogoni primari non si distinguono dai protogoni; si può solo notare che essi hanno in media una grandezza leggermente inferiore. La differenza consiste solo nell'appartenere a un corpo istologicamente differenziato in testicolo.

Il nucleo dei protogoni presenta dimensioni variabili fra 5,5 e 8,8 μ (diametro maggiore); il nucleo degli spermatogoni primari fra 3 e 6 μ con una frequenza forte intorno ai 5 μ.

Lo CHAMPY (1913) insiste, ed io sono perfettamente d'accordo con lui, sulla identità strutturale fra protogoni e spermatogoni primari.[1]

Il citoplasma degli spermatogoni primari è omogeneo e molto chiaro. Il corpo cellulare a volte è piccolo, a volte è invece molto sviluppato e la cellula raggiunge sino a 10 μ di diametro.

Di solito presentano citoplasma scarso gli spermatogoni che

---

[1] Si conosce un caso nel quale i protogoni apparirebbero ben distinti dagli spermatogoni primari. Da quello che deduco dal lavoro del TURNER (1919) ciò si verificherebbe nella perca. I protogoni del testicolo di adulto occupano una posizione extra-testicolare. Ogni anno parte di queste cellule migrano nell'interno, si moltiplicano, aumentano di volume, acquistano granuli siderofili, e poi subiscono una contrazione, trasformandosi, dice il TURNER, in spermatogoni primari che occupano solo una parte del nido che frattanto si è formato. Io credo, checchè ne dica il TURNER, che la contrazione sia un effetto del cattivo fissaggio o un indizio di degenerazione. La vera trasformazione in spermatogoni avverrebbe, secondo me, alla fine della migrazione, quando la cellula si ingrossa e vi compaiono i granuli siderofili. Comunque si interpreti la questione, sembra certo che si possa nella perca nettamente distinguere i protogoni dagli spermatogoni.

hanno subìto un maggior numero di divisioni. Esistono nel citoplasma numerosi granuli siderofili identici a quelli dei protogoni;[1] di solito i granuli assumono con il Pianese una colorazione rossa, mentre il nucleolo è rosso-bluastro o addirittura verde; con la tricromica di Flemming assumono la safranina sia il nucleolo che i granuli siderofili; con l'ematossilina ferrica il nucleolo trattiene il colore molto meno che i granuli (Tav. III, fig. 39).

Il nucleo ben fissato è ovale o sferico ed ha aspetto polverulento; esso non prende intensamente i colori basici (violetto con la tricromica, verde con il Pianese). Nel nucleo in riposo non è traccia di « procromosomi ».[2]

Nei tubuli appena formatisi del testicolo di anguille gli spermatogoni primari formano di solito un solo strato.

Ciascuna cellula protogoniale è avvolta in una ciste formata da cellule avvolgenti; queste in parte derivano dalle prime cellule avvolgenti, in parte dalle cellule dei cordoni midollari, come negli Anfibi.[3]

Spermatogoni secondari. — Quando i tubuli testicolari si sono completamente formati e mostrano già una cavità nel loro interno, comincia, di solito, la formazione degli spermatogoni secondari; non esiste, però, un'epoca fissa della loro prima comparsa e si possono trovare i primi nidi di spermatogoni secondari fin dal principio della mascolinizzazione subitanea, ancor prima che nei canali esista un lume. La formazione in grande degli spermatogoni secondari avviene in anguille a divisa argentina completa, già migranti al mare.

Si può dire che la formazione degli spermatogoni primari co-

---

[1] Come negli ovociti, i granuli siderofili sono stati veduti anche nelle cellule genitali maschili di numerosissime specie di pesci, ma non sembra che tutte ne siano provviste, poichè il Foley (1926) non li avrebbe riscontrati, ad esempio, in *Umbra limi*.

[2] Foley (1926) negli spermatogoni primari in riposo di *Umbra limi* descrive dei « procromosoni ».

[3] I vecchi ricercatori credevano che queste cellule avvolgenti o follicolari derivassero dall'epitelio germinativo. Ma già il Brock (1881) suppose un'origine mesenchimatica, sia per il follicolo dello spermatogonio, che dell'ovocita.

Anche lo Champy (1913) ritiene che le cellule stromatiche primitive e secondarie, siano ambedue di origine mesenchimatica.

mincia durante gli ultimi periodi della mascolinizzazione graduale e durante la prima metà della mascolinizzazione subitanea, mentre la formazione degli spermatogoni secondari caratterizza la seconda metà della mascolinizzazione subitanea fino alla migrazione al mare.

Nel comportamento degli spermatogoni secondari esiste per l'anguilla, e per i Pesci in genere, un parallelismo forte con quello che avviene negli Anfibi. Lo spermatogonio primario inizia una serie di degenerazioni di cellule le cui divisioni si succedono rapidamente (Tav. III, fig. 39). Le prime divisioni spermatogoniali poco differiscono da quelle protogoniali ed ovogoniali. I cromosomi sono corti e tozzi. Le cellule figlie non si isolano, ma rimangono raccolte in logge o cisti formatesi a spese del follicolo dello spermatogonio primario da cui derivano. Le dimensioni degli spermatogoni secondari diminuiscono rapidamente, dato il ritmo veloce delle divisioni. I nuclei si mantengono lievemente ovolari con un diametro massimo di circa 3 μ. È molto più facile trovare nidi di spermatogoni secondari in cariocinesi che in riposo, specialmente in profase. I nuclei in riposo presentano il medesimo aspetto di quelli degli spermatogoni primari, salvo le dimensioni che sono minori, e una maggiore abbondanza dei granuli di cromatina che danno ai nuclei una tinta più scura. Nucleolo unico, piccolo, con le medesime caratteristiche di quello degli spermatogoni primari; rimane un po' nascosto dai granuli di cromatina. Nel plasma si vedono raramente granuli siderofili; questi, infatti, durante la cariocinesi, si sono distribuiti alle cellule figlie senza scindersi, e perciò il loro numero nelle varie generazioni è rapidamente diminuito e nelle ultime generazioni di spermatogoni, o non si vedono più o ne esistono uno o due per cellula. Durante la cariocinesi i granuli siderofili sono posti alla periferia del fuso, a volte aderenti, ma mai nell'interno.

Negli spermatogoni secondari all'inizio della profase aumenta fortemente la colorabilità del nucleo, si formano cromosomi tozzi somiglianti a grosse zolle di cromatina; il carioplasma è fortemente colorato; il nucleolo va scomparendo (Tavola III, fig. 40). È molto più difficile incontrare, nei nidi di spermatogoni secondari, figure di monaster o di diaster; nei pochi casi che sono caduti sotto la mia osservazione, i cromo-

somi, anche in preparati in Flemming, sono apparsi impastati quasi sempre in unica massa (Tav. IV, figg. 41-42).

Ma non saprei decidere se queste cariocinesi erano normali.

Spermatociti in stasi. — Nell'anguilla gli spermatogoni secondari si dividono fino a 7 e 8 volte prima di diventare spermatociti, formando nidi di 128-256 nuclei.[1]

La formazione di nidi a numerosi nuclei è, nell'anguilla, il segno dello svolgersi completo della spermatogenesi; nidi così grandi li ho trovati solo in una anguilla macroftalma catturata nel Golfo di Genova, conservata nella collezione generale dei Vertebrati italiani di Firenze,[2] che aveva il testicolo in piena spermatogenesi (non ancora però in spermioistogenesi).

Di solito i nidi delle comuni anguille argentine sono molto più piccoli, corrispondenti alla quarta e quinta generazione spermatogoniale, ed è probabile che, anche dopo un minor numero di generazioni spermatogoniali, le cellule passino allo stadio di spermatocita.

Corrispondentemente a questa indeterminatezza dell'epoca di trasformazione, si ha un'impossibilità di distinguere uno spermatogonio secondario in stasi da uno spermatocita in riposo.

Solo quando in un nido alcuni nuclei hanno assunto figure auxocitarie, mentre altri sono in riposo, si può affermare che essi appartengono a spermatociti. Essi presentano gli stessi caratteri citologici degli spermatogoni secondari.

I nidi di spermatociti, che si vedono non raramente nelle anguille argentine, sono piccoli, perchè corrispondono ai primi inizi della spermatogenesi che culmineranno in una grande, unica ondata; il testicolo di anguilla è infatti di tipo sincrono. Al culmine dell'ondata spermatogenica i nidi, come ho detto, sono molto più grandi.

---

[1] Nella *Perca* il numero delle divisioni spermatogoniali è 5 o 6 (Turner, 1919); nell'*Umbra limi* 6 e forse più; nella *Gambusia* il numero è ancora maggiore, circa 16 generazioni si susseguono prima che si inizi l'auxocitosi.

[2] Purtroppo l'esemplare era da molti anni nell'alcool (data di cattura: 21 novembre 1905). Considerando il suo stato di conservazione, credo che, freschissimo, sia stato fissato in formalina e poi conservato in alcool. Con opportune manipolazioni sono riuscito ad ottenere preparati studiabili.

Per lo studio dell'ulteriore svolgimento della spermatogenesi mi sono basato sull'osservazione dei piccoli nidi di spermatociti in anguille argentine pescate in mare, provenienti da Castiglion della Pescaia. In queste ho anche trovato piccoli gruppi di spermi normali (Tav. VII, fig. 66), di dimensioni e aspetto identici a quelli visti dal GRASSI nelle anguille di Messina, e, corrispondentemente, piccoli nidi di spermatociti normali che precedono la grande ondata e che in parte degenerano e in parte danno origine ai gruppi di spermi normali. Quanto agli spermatociti e spermi delle anguille dello stretto di Messina credo si tratti delle medesime formazioni; i nidi in queste sono più numerosi perchè più vicino è il culmine dell'ondata, ma fondamentalmente si tratta dello stesso fenomeno: evoluzione normale di alcuni spermatociti fino agli spermi. Sia per le anguille dello stretto di Messina, che per quelle di Castiglion della Pescaia, eccettuato il fatto della precocità e della circostanza che difficilmente si giunge alla spermiogenesi completa senza degenerazioni, l'evoluzione dei nidi è da considerare del tutto normale.

Mi sono poi anche basato sopra lo studio dei preparati del testicolo dell'anguilla del golfo di Genova che è risultata di notevole interesse. Nel testicolo di questo esemplare l'ondata spermatogenetica appare in pieno sviluppo.

Spermatociti in leptotene. — Molto raramente ho trovato spermatociti all'inizio della fase leptotene in qualche nido dell'anguilla di Genova, e in alcune delle anguille argentine di Castiglion della Pescaia (Tav. IV, figg. 43-44).

Hanno un nucleo rotondo da 3 a 4 μ di diametro.[1] I fila-

[1] Parrebbe quindi che nella linea maschile in *Anguilla vulgaris* non vi fosse un accrescimento delle cellule, precedente l'auxocitosi, come vi è invece nella linea femminile. I pesci riguardo a questo fatto si comportano molto diversamente fra loro. Il TURNER (1919) nella perca non vede alcun periodo di accrescimento: in questa specie, dopo la formazione degli spermatogoni secondari, segue una graduale diminuzione di grandezza delle cellule della serie fino allo spermio. LO HANN (1927) in *Cottus bairdii* descrive gli spermatociti come sempre leggermente più piccoli degli spermatogoni. Il FOLEY (1926) invece in *Umbra limi* vede un aumento di grandezza nel 15-20 % degli spermatociti. Negli Anfibi è fatto normale che lo spermatocita di prim'ordine sia assai più grande degli ultimi spermatogoni secondari.

menti leptotenici esili, non colorabili, hanno decorso confuso; forse esiste uno stadio di « leptotene ordinato » ; non ho trovato contrazioni sinaptiche.[1] Il nucleolo è presente ma relativamente piccolo; sparisce allo stadio di pachitene.[2]

Spermatociti in tardo pachitene. — Li ho osservati nell'anguilla di Genova (Tav. IV, fig. 45). Il nucleo è sferico di diametro da 3 a 4 μ ; il succo nucleare è limpido : i filamenti un po' impastati fra loro appaiono grossi, larghi, a contorni regolari. In alcuni nidi meno avanzati i filamenti sono grossi, ma a margini lisci, netti, con un andamento che indica il persistere della disposizione tipica del « leptotene ordinato ». Allo stadio di pachitene è sparito il nucleolo.

Diacinesi. — Ho trovato alcuni nidi quasi certamente in diacinesi nell'anguilla di Genova (Tav. IV, figg. 46-47). In questi nuclei i gemini sarebbero ancora a forma irregolare, come grosse masse angolose disposte presso la superficie del nucleo. I gemini sono di dimensioni quasi simili.

Prespermatidi e spermatidi. — Il GRASSI afferma di aver riscontrato la presenza di spermatidi in alcuni nidi dei testicoli di anguille argentine.

Io non li ho potuti identificare nei miei preparati e del resto il GRASSI stesso non li descrive.[3] Ho trovato invece spermatidi già in parte trasformati in spermi in una piccola ciste di un'an-

---

[1] TURNER (1919) descrive nella perca uno stadio di contrazione sinaptica che occupa i tre quarti del nucleo. GEISER (1924) in *Gambusia* non trova una contrazione sinaptica e non è sicuro che avvenga un appaiamento dei fili nel leptotene; negli stadi di sinaptene e pachitene ritrova la sinapsi e i fili diventano metà di numero. HANN (1927) nel *Cottus* vede una parziale contrazione dei filamenti leptotenici. Secondo FOLEY (1926) in *Umbra limi* allo stadio leptotene seguirebbe un appaiamento dei fili : « zigotene ».

[2] In altri pesci il nucleolo sparisce già allo stadio di leptotene, ad esempio in *Umbra limi* (FOLEY, 1926) e in *Cottus bairdii* (HANN, 1927).

[3] Gli spermatociti di secondo ordine non sempre nei pesci ricostituiscono il loro nucleo : la ricostituzione non avviene mai in *Gambusia* (GEISER, 1924), solo a volte in *Umbra limi* (FOLEY, 1926); esistono, ma con brevissima durata, spermatociti secondari con nucleo ricostituito in *Cottus bairdii* (HANN, 1927).

guilla argentina. I nuclei degli spermatidi erano di circa 2 μ di diametro, ancora sferici, altri già allungati ($2 \times 1,5\ \mu$) con un granulo (centriolo?) nella estremità più acuta. Il contenuto nucleare di questi spermatidi era già divenuto omogeneo, intensamente colorabile con i colori basici.[1]

Spermi normali. — I gruppi di spermi che in piccola quantità ho trovato nelle anguille di Castiglion della Pescaia (Tavola IV, fig. 49) e nell'anguilla di Genova (Tav. IV, fig. 48) presentano le stesse dimensioni e caratteristiche di quelli delle anguille di Messina disegnati dal GRASSI (1913). La porzione anteriore dello spermio, dal *perforatorium* alla parte di congiunzione, cioè quella parte che si colora intensamente colle ordinarie colorazioni, misura 5 μ ; la massima larghezza della testa è 1-1,5 μ.[2] La testa dello spermio vista dall'alto presenta un contorno lievemente romboidale; lo spermio ha la forma di una lamina piegata a cucchiaio in modo da presentare una superficie concava e una convessa. La testa termina anteriormente con un breve uncino (*perforatorium*) rivolto verso la superficie concava. Caratteristico è l'aspetto che hanno gli spermi visti di lato : presentano, allora, una forma triangolare allungata con un lato (corrispondente alla superficie convessa) convesso; gli altri due lati formano un angolo ottuso che sporge nella superficie concava.

Non posso pronunziarmi sulla lunghezza della parte principale della coda e del flagello, data la quasi impossibilità di trovare, nei pochi gruppi di spermi osservati, uno spermatozoo tutto compreso in una sola sezione.

Le notizie surriferite, necessariamente brevi, intorno alla spermatogenesi normale mostrano che la grande ondata sper-

---

[1] La durata degli sparmatidi prima della loro trasformazione in spermi è molto varia nelle diverse specie di Teleostei : è cortissima nella perca (TURNER, 1919), molto lunga nella *Gambusia* (GEISER, 1924).

In *Umbra limi* (FOLEY, 1926) gli spermatidi sono circa la metà più piccoli degli spermatociti secondari; in essi si inizia una profase che abortisce e la cromatina si deposita alla periferia del nucleo, che si trasforma nella testa dello spermio.

[2] Variabile molto è la grandezza della testa degli spermi delle varie specie : nel *Cottus* misura 2 μ (HANN, 1927) ; nell'*Umbra* le teste son appena più piccole degli spermatidi.

matogenica deve avere un andamento del tutto regolare, come nelle altre specie, e che, per quanto forte possa essere il sincronismo nello sviluppo del testicolo di anguilla, pure esistono alcuni nidi (sempre più numerosi quanto più ci si avvicina all'ondata maggiore) che maturano prima degli altri. Anche per essi, se si giunge alla produzione di spermi, questa avviene, seguendo una via del tutto normale.

SPERMATOGENESI ABORTIVA.

Prima ancora che si manifesti la formazione dei primi piccoli gruppi di spermi, e contemporaneamente alla loro formazione, un gran numero di cellule genitali maschili degenera in vari stadi. Il GRASSI (1919), che per primo ha osservato questo fenomeno nelle anguille argentine, crede che si tratti di una p r e s p e r m a t o g e n e s i paragonabile a quella descritta dal PRENANT nei Mammiferi. A questa anche lo CHAMPY (1913) paragonò conati di spermatogenesi, seguiti da degenerazione, osservati in varie specie di Anfibi. Ugualmente il BECCARI (1925) parla di prespermatogenesi nel *Bufo viridis*. E dopo la recente revisione del processo eseguito dal GALGANO (1931-32) nella *Rana esculenta* si può oggi affermare che in quasi tutti gli Anfibi deve avvenire un primo conato di spermatogenesi, abortivo, durante lo sviluppo, quando istologicamente si differenzia e si costituisce il testicolo; poi fenomeni di spermatogenesi abortiva si hanno ogni anno in quelle specie nelle quali periodicamente si ripete una spermatogenesi stagionale. Questi fenomeni durano invece tutto l'anno, quando non esiste completa interruzione, come per esempio nella *Rana esculenta*. In tale specie, soltanto il primo conato risponderebbe alla vera prespermatogenesi del Prenant.

Ritornando alle anguille, va ricordato che è a noi ignota la loro vita quando hanno raggiunto gli abissi marini, ma quello che fin ora conosciamo ci autorizza ad ammettere che almeno la massa di seme necessaria per la prima fregola dei maschi, che sorprendiamo migranti al mare, sia il prodotto di quel processo spermatogenetico che insorge dopo il completo differenziamento del testicolo nelle anguille argentine, e che ho poco fa descritto. Credo pertanto che i fenomeni di degenerazione

osservati dal Grassi in elementi della linea maschile, e che io stesso ho riveduto e fra breve illustrerò, possano essere interpretati veramente come vera prespermatogenesi. Non farei invece rientrare in questo processo la formazione di gruppetti di spermi, che si osservano qua e là nel testicolo di anguille argentine pescate in mare, ma ancora sessualmente immature, poichè questa formazione non è che l'inizio di un fenomeno che va man mano intensificandosi, con tutte le caratteristiche del processo normale, quanto più ci si avvicina alla grande ondata spermatogenetica che probabilmente avviene quando le anguille hanno raggiunto le grandi profondità. Il fatto che questi stessi spermi in anguille mantenute in acqua dolce degenerino non può modificare questo concetto: in condizioni anormali si arresta tutta la spermatogenesi ed è evidente che gli spermi già formati debbano degenerare.

Ma insieme a nidi nei quali le cellule genitali evolvono normalmente, se ne osservano spesso altri nei quali le cellule in incipiente evoluzione spermatocitaria, che appare in anticipo rispetto alla massa del testicolo, risultano degenerate, senza che di questo processo possa essere incolpato un qualsiasi disagio dell'organismo, poichè lo si osserva in quasi tutte le anguille catturate nel loro ambiente normale. Sono appunto questi fenomeni che credo di poter interpretare, insieme al Grassi, come vera prespermatogenesi.[1] La prespermatogenesi incomincia nell'anguilla immediatamente prima della mascolinizzazione subitanea (cioè circa quando incomincia a manifestarsi la divisa argentina e nel testicolo si va completando la formazione di tubuli di spermatogoni primari), assume forte intensità quando si

---

[1] Fenomeni di spermatogenesi, seguiti da degenerazioni cellulari, devono essere molto più frequenti nei Teleostei di quello che abitualmente si creda. Il *Lepomis auritus* si comporta come la *Rana esculenta,* presentando conati accessori oltre l'ondata principale (Champy, 1924). Il Foley (1926) in *Umbra limi* vede un gran numero di degenerazioni, sia degli spermatogoni secondari, che degli spermatociti di prim'ordine. Il Romieu (1923) in un *Ortagoriscus mola,* catturato in piena estate, nota un'attiva formazione di spermatogoni e alcuni spermatociti, spermatidi e spermi in parte degenerati. Io credo che in questo caso si sia trattato di nidi ritardatari della precedente grande ondata normale e quindi non di un fenomeno comparabile a una prespermatogenesi (*sensu lato*) come vorrebbe l'Autore.

inizia la formazione degli spermatogoni secondari, continua abbondante contemporaneamente alla formazione dei primi spermi normali, e cessa solo al culmine dei fenomeni maturativi dell'ondata spermatogenica normale.

Questi tentativi di evoluzione spermatogenetica, seguiti da degenerazione avvengono sia negli spermatogoni primari che in quelli secondari, e portano, come conseguenza, a varie forme di picnosi.

Un tipo di degenerazione degli spermatogoni primari molto frequente si presenta con le seguenti caratteristiche (Tav. IV, fig. 50) : il citoplasma appare normale, il nucleo è rotondo, con un diametro di circa 6 mm., quindi non contratto : esso ha un nucleolo centrale acidofilo e carioplasma chiarissimo. Da un lato della membrana nucleare la cromatina è contratta in una massa unica intensamente colorabile con la safranina o con la ematossilina ferrica. Essa ha la forma di un ferro di cavallo disposto in modo che il nucleolo viene a trovarsi fra i rami del ferro, ma non aderisce ad essi ; la massa contratta ha limiti nettissimi. A parte l'omogeneità della massa, se il fenomeno invece che in uno spermatogonio primario avvenisse in uno spermatocita, potrebbe essere interpretato come una sinapsi. Questa polarizzazione non è preceduta da formazioni di filamenti, ma avviene nei nuclei in riposo dove la cromatina ha un aspetto polverulento. È quindi un fenomeno diverso da quello che avviene negli spermatociti in auxocitosi. L'aspetto della massa cromatica è però indiscutibilmente di materiale degenerato. Negli spermatogoni primari si osserva inoltre un secondo tipo di degenerazione (Tav. IV, fig. 51). Essa avviene lentamente, durante mesi, in anguille argentine che non possono migrare e nelle quali, in conseguenza delle anormali condizioni di vita, tutti gli spermatogoni primari del testicolo subiscono la medesima sorte, eccetto che nei casi nei quali essi si trasformano in cellule della linea femminile. Questo tipo di degenerazione è stato visto anche dal BROCK (1881).

Negli spermatogoni primari, che normalmente presentano un nucleo polverulento, quando incomincia questa trasformazione, appaiono un certo numero di filamenti che dal nucleo centrale irraggiano, ramificandosi verso la periferia (Tav. IV, fig. 51 *a*). I filamenti appaiono composti di una impalcatura

acromatica e di granuli di cromatina. Successivamente la cromatina si impasta, i filamenti si ingrossano e si slargano e rimangono fra loro irregolarmente congiunti a rete (Tav. IV, fig. 51 *b*). Il nucleo poi si contrae, le maglie della rete si serrano e ne risulta una sfera compatta di cromatina che uniformemente e intensamente prende il colore nucleare.[1] Negli ultimi tempi della trasformazione il citoplasma diviene granuloso. In alcuni casi, invece che in una sfera omogenea, il nucleo si trasforma in una massa stellata.

Anche negli spermatogoni secondari si osservano varie specie di degenerazioni. Incontriamo innanzitutto i due tipi di degenerazioni poc'anzi descritte negli spermatogoni primari (Tavola IV, figg. 52-53). Poi con molta frequenza si vede una forma di degenerazione che interviene all'inizio del processo di moltiplicazione spermatogoniale. Sono queste le degenerazioni caratteristiche della prespermatogenesi.

I cromosomi delle profasi che hanno forma di zolle, quando incomincia la degenerazione, o assumono contorni indistinti come se si risolvessero in granuli e questi invadessero il carioplasma, oppure aumentano di volume fino a riempire completamente il nucleo (Tav. IV, figg. 53 e 55). In ambo i casi il nucleo si trasforma in un corpo compatto, sferoidale che assume intensamente i colori basici (Tav. IV, figg. 56-57); si ha, in altre parole, una picnosi.

Variabile è la grandezza del nucleo all'inizio della degenerazione. In nidi piccoli a pochi nuclei varia da 4 a 5 μ, in nidi di dimensioni medie da 3 a 4 μ, nei nidi maggiori si aggira intorno ai 3 μ.

Quando il nucleo si è trasformato in corpo completamente degenerato, le dimensioni scendono fino a 2 μ (esistono anche nuclei degenerati di 4 μ).

IL TESSUTO INTERSTIZIALE DEL TESTICOLO DI ANGUILLA.

Gli autori che si sono occupati dello studio istologico del testicolo di anguilla hanno segnalato la presenza di cellule interstiziali, ma non le hanno particolarmente descritte.

---

[1] Si colora intensamente in verde col Pianese, in rosso rubino con la safranina.

Fin dal primo cenno della formazione dei tubuli, durante l'epoca della mascolinizzazione graduale delle anguille gialle, nelle gonadi appare un tessuto, che credo corrispondente allo interstiziale; esso è già presente, quando ancora è in atto l'ovogenesi giovanile.

Il tessuto è formato da gruppi di poche cellule disposte a pila; a volte fusiformi, con nucleo ovoidale allungato a netta membrana, con pochissima cromatina senza nucleolo. Alcuni granuli del nucleo appariscono leggermente acidofili (si colorano in bluastro col Pianese). Il citoplasma si presenta omogeneo senza traccia di inclusi con i fissaggi e le colorazioni ordinarie, ma si differenzia nettamente da quello delle altre cellule somatiche per essere fortemente colorabile con i colori acidi: rimane grigio anche dopo prolungata estrazione del colore con ematossilina ferrica e si colora in rosso intenso con il Pianese. Le cellule interstiziali compaiono al primo differenziarsi dei cordoni spermatogoniali; mantengono lungamente le caratteristiche descritte, almeno fino agli stadi più avanzati che ho potuto esaminare; nelle anguille argentine, formano cordoni o nodi situati in prevalenza verso la base del lato vascolare fra i fasci di connettivo dello stroma. È certo che se queste cellule sono omologhe alle cellule interstiziali degli altri pesci, dovranno subire ulteriori modificazioni nel corso della spermiogenesi.[1]

L'apparire dell'interstiziale non implica, come ho detto altrove (p. 41), nè un arresto dell'ovogenesi, nè una maggiore degenerazione dei suoi prodotti. Neppure alla presenza dell'interstiziale può essere attribuita, secondo me, l'assunzione della divisa argentina.

Come è noto, sulla importanza della funzione ormonica delle cellule interstiziali nella determinazione dei caratteri sessuali secondari si è molto discusso e si discute, e per ora non si può certo dire che su questo argomento gli autori abbiano raggiunto un accordo.

Limitandomi a ricordare ciò che ho potuto raccogliere nella bibliografia relativamente ai Pesci, dirò che funzione ormonica

---

[1] La presenza di tessuto interstiziale è stata verificata in molti pesci; ma è stato anche veduto che forme vicine si comportano molto diversamente a questo riguardo.

fu attribuita all'interstiziale del testicolo dei Pesci dal COURRIER (1921); tale funzione si esplicherebbe specialmente con l'assunzione della divisa di nozze che il COURRIER studiò nel *Gasterosteus*. Il BATTAGLIA (1925) ha studiato l'interstiziale nei Selaci ed è convinto che abbia solamente una funzione trofica. Lo CHAMPY (1927) fa notare che nel *Gasterosteus* il massimo sviluppo del tessuto interstiziale si ha quando il testicolo è pieno di spermi, mentre la divisione si forma molto prima.

Nel *Phoxinus* la divisa coincide con l'inizio della spermatogenesi. Nei *Phoxinus* tenuti al caldo in serra durante l'inverno appare la divisa e la spermatogenesi. Perchè appaia la divisa, bisogna che non vi siano più elementi in evoluzione. Lo CHAMPY non solo non attribuisce all'interstiziale funzione ormonica, ma anche dubita che molti tessuti interstiziali descritti dal COURRIER nei Pesci, siano da considerarsi come tali.

Le esperienze di allevamento in serra calda eseguite da VAN OORDT (1924) con *Gasterosteus*, hanno dimostrato che la presenza di molto interstiziale non è necessaria per la formazione della divisa di nozze.

Nei Ciprinidi dove manca l'interstiziale le caratteristiche sessuali coincidono con la spermatogenesi (CHAMPY, 1927). Nel *Petromizon*, invece (WEISSEMBERG, 1927), la spermatogenesi non coincide con i caratteri esterni di maturazione sessuale; ma li precede (l'inverso preciso di ciò che avviene nell'anguilla).

IL CORREDO CROMOSOMICO NELLE CARIOCINESI DELLE CELLULE GENITALI DELL'ANGUILLA.

Durante lo studio istologico dell'evoluzione dei corpi genitali dell'anguilla, ho cercato di verificare il numero dei cromosomi della specie.

In pochissime specie di Teleostei è stato possibile studiare il corredo cromosomico, data la piccolezza delle cellule e il forte numero di cromosomi. Nei Pesci in genere ed anche nei Ciclostomi le piastre cromosomiali hanno una particolare sensibilità ai reagenti e in varie specie sotto l'azione di qualsiasi fissativo si contraggono in unico disco omogeneo; questo si verifica specialmente quando il fuso è piccolo.

Il WINGE (1922) ha potuto studiare il corredo cromosomico

di *Lebistes* e trovare la formula cromosomica che indicherebbe un'eterozigotia maschile.

Il Gejser (1924) in *Gambusia holbroocki* non è riuscito a stabilire con sicurezza il numero dei cromosomi : essi non sarebbero meno di 30. Crede l'autore che vi sia un eterocromosoma nel corredo maschile.

Il Turner (1919) è riuscito nelle divisioni spermatogoniali della *Perca* a stabilire il numero dei cromosomi : nel ♂ 2 n sarebbe = 27.

Il Foley (1926) ha contato nelle divisioni spermatogoniali della *Umbra limi* 22 cromosomi. Questo autore ha osservato in tutte le divisioni spermatogoniali due grossi cromosomi a forma di S. Egli crede che questi siano cromosomi sessuali. Il ♂ quindi sarebbe omozigote.

Il Mrsic (1923) ha contato circa 12 cromosomi nelle divisioni spermatogoniali di *Salmo irideus*.

Lo Hann (1927) in *Cottus bairdii* dalla media di 27 conteggi spermatogoniali, trova 35,2, mentre da una media di conteggi della diacinesi 17,8.

Ho eseguito il conteggio dei cromosomi nelle profasi e metafasi protogoniali, archiovocitiche e spermatogoniali dei corpi genitali di anguilla. Questi tre tipi di cellule sono le sole che presentino alla metafase piastre a cromosomi ben distinti in condizioni da poter essere contati.

In tutte le altre divisioni i cromosomi appaiono sempre fra loro agglutinati sotto forma di una placca omogenea.

Il miglior fissativo per il conteggio dei protogoni è risultato il Sanfelice, colorando le sezioni con ematossilina ferrica o con la tricromica di Flemming, previa osmizzazione. Una difficoltà nel conteggio delle piastre è costituita dalla presenza dei granuli siderofili.

Si possono facilmente rintracciare divisioni protogoniali in anguille dai 9 a 10 cm. I loro cromosomi appaiono piuttosto grossi, rotondeggianti, di dimensioni variabili.

Da un buon numero di conteggi ho sempre ottenuto 36 cromosomi.

Solo in un caso i cromosomi erano 34.

Nelle divisioni archiovocitiche ed ovogoniali (Tav. IV, figg. 58 e 59) si possono ottenere i migliori conteggi. I cro-

mosomi hanno l'aspetto di quelli protogoniali, ma sono più grossi e più rotondeggianti. Si notano anche in questo caso più forti variazioni di grandezza. Il numero di cromosomi risulta sempre 36; esiste però sempre anche il dubbio, specie quando la piastra è compresa in due sezioni, se non debbano essere considerate come cromosomi altre piccole masse cromatiniche più irregolari delle altre: sono esse parti di cromosomi tagliati? sono i corpi siderofili? Contando anche queste masse dubbie si supererebbe i 38 cromosomi.

Nelle divisioni spermatogoniali (Tav. IV, figg. 60 e 61) i cromosomi hanno forma molto diversa di quelli delle divisioni protogoniali e archiovocitiche; sono a bastoncino più o meno curvato, a volte molto allungati, stretti nel mezzo, a volte con lieve intaccatura; hanno dimensioni variabilissime. Molti conteggi sicuri mi hanno dato 36 cromosomi; alcuni dubbi 37 e 38.

Concludendo, il numero diploide dei cromosomi dell'anguilla tanto nelle divisioni ovogoniali, che spermatogoniali, è con probabilità 36, per quanto io non possa del tutto escludere il numero 38.

Nelle divisioni spermatogoniali due o tre cromosomi si distinguono a volte per la loro maggiore lunghezza. Faccio notare la circostanza, ma non ho raccolto elementi per attribuire a questi cromosomi o ad altri uno speciale valore. Pertanto non saprei decidere se siano rintracciabili nelle cariocinesi di anguilla i cromosomi del sesso, nè quale sia la loro distribuzione nei due sessi.

Durante le divisioni di tutti i tipi cellulari su ricordati, ho notata la presenza in molti casi di uno o più cromosomi che precedono gli altri nella loro migrazione polare: un fatto simile è stato registrato anche dal Geiser (1924) nella *Gambusia*.

Nell'anguilla però questo comportamento è causale, mentre pare che nella *Gambusia* avvenga sempre.

TENTATIVI DI MATURAZIONE ARTIFICIALE NEI CORPI GENITALI DELL'ANGUILLA

Le anguille argentine (potenzialmente maschi) trattenute forzatamente in acqua dolce si comportano in maniera diversa: in alcune, dopo un certo tempo interviene un'atrofia del corpo

genitale; in altre invece il corpo genitale femminizza e tutto l'animale acquista caratteri di femminilità. Il GRASSI (1919), basandosi sul fatto che la maturazione dell'anguilla avviene in mare, pensò di allevare anguille argentine in acqua marina per ottenere la maturazione del testicolo. Egli ebbe però i medesimi risultati che aveva ottenuto nell'allevamento in acqua dolce.

L'aspetto morfologico dell'anguilla argentina o macroftalma indica assai chiaramente che essa tende a diventare un pesce abissale; e gli autori sono concordi nell'ammettere che la sua riproduzione debba avvenire a profondità non inferiore ai 500 metri. Dei numerosi fattori che caratterizzano l'ambiente abissale e che possono influire sulla maturazione degli organi sessuali dell'anguilla, io credo che tre debbano essere presi più particolarmente in considerazione: temperatura, nutrimento e pressione.

Esaminiamo innanzitutto la temperatura. Non tutte le anguille dovrebbero raggiungere la maturità sessuale alla stessa temperatura se, come ritiene di avere dimostrato il GRASSI, quelle dei nostri paesi si riproducono nel Mediterraneo, e quelle delle regioni europee bagnate dall'Atlantico arrivano fino agli abissi del mare dei Sargassi. Infatti nei fondali del Mediterraneo la temperatura non discende sotto i 12° (MARINELLI) mentre nel mar dei Sargassi, ad uguale profondità, si abbassa fino a 1° e 2°. Quindi, o si ammette che per riprodursi l'anguilla ricerca un'isoterma di circa 12°, ed è, pertanto, abissale nel Mediterraneo e tectonica negli oceani; oppure che la temperatura non influisce sulla sua maturazione entro limiti termici molto ampi.

La prima ipotesi è poco probabile, la costituzione abissale dell'anguilla è identica sia nelle anguille delle rive mediterranee, sia nelle anguille delle rive oceaniche. Sarebbe poco verosimile l'ammettere un *habitat* completamente diverso con uguale costituzione morfologica, specialmente trattandosi di una costituzione morfologica acquisita in un determinato momento, in vista di ulteriore mutamento ambientale.

La seconda ipotesi, cioè possibilità di maturazione entro limiti termici molto ampi, è più verosimile. L'azione della temperatura sull'ovogenesi e sulla spermatogenesi dei Pesci è assai diversa per le varie specie; in molte, durante l'estate e l'au-

tunno, si ha la completa formazione degli spermatogoni secondari, o addirittura degli spermatociti, i quali si mantengono in stasi durante tutto l'inverno per l'abbassamento della temperatura. L'ulteriore sviluppo delle cellule sessuali riprende alla primavera successiva. Allevando questi pesci in serre calde, durante l'inverno, si ottiene precocemente l'evoluzione delle cellule sessuali e la divisa di nozze (VAN OORDT, 1924) con *Gasterosteus aculeatus*; CHAMPY (1927) con *Phoxinus leavis, Tinca tinca, Ameiurus nebulosus*. È quindi certa, in questi casi, una dipendenza della spermatogenesi dalla temperatura. Meno netta è la dipendenza della spermatogenesi dalla temperatura in altre specie, ad esempio nel *Petromizon* (Ciclostomi). I Salmonidi, che hanno un *optimum* termico molto basso, non arrestano la loro spermatogenesi durante l'inverno.

La spermatogenesi dell'anguilla potrebbe essere indipendente dalla temperatura, od avere un *optimum* basso, pure avvenendo anche a temperatura più elevata. Per risolvere la questione, cercherò di allevare in serra calda e acqua marina anguille argentine.

Consideriamo il nutrimento. Verrebbe fatto di pensare che uno speciale nutrimento possa influire sul processo di maturazione sessuale. Sembra d'altra parte accertato che le anguille, assunta la divisa argentina, cessino completamente di nutrirsi (MAZZARELLI, 1914).

Resta l'azione della pressione. Il mutamento di pressione implica modificazioni profonde nel ricambio dei gas, e in tutto l'equilibrio chimico-fisico che regola gli scambi vitali. Se tale equilibrio profondamente si modifica, niente vieta di ammettere che tale modificazione influisca sulla ulteriore evoluzione della spermatogenesi dell'anguilla. Credo che l'azione della pressione principalmente si esplichi per il modificato comportamento dei gas nel mezzo in cui vive l'animale. Queste modificazioni implicano altrettanti cambiamenti nei gas disciolti nei liquidi nutritivi dell'animale.

La chimica-fisica distingue due maniere secondo le quali un gas può essere trattenuto da una soluzione: in una prima maniera un aumento della temperatura o una diminuzione della pressione lascia libero il gas, e si tratta allora di una vera soluzione; in una seconda maniera questo non succede e si tratta

perciò di una reazione chimica fra gas e soluzione: l'anidride carbonica, per esempio, è in parte disciolta e in parte combinata (KRUMMEL, 1907).

Mentre nell'aria il rapporto in volume fra ossigeno e azoto $\frac{O_2}{N_3} = \frac{1}{4}$ nell'acqua è $\frac{O_2}{N_3} = \frac{1}{2}$; quindi gli animali acquatici respirano una miscela due volte più ricca di ossigeno di quelli terrestri. La presenza dei sali disciolti nelle acque marine fa sì che molto diverse siano le proporzioni dei vari gas disciolti nelle acque dolci ed in quelle marine.

Le prime analisi esatte dei gas contenuti nelle acque marine si devono al JACOBSEN (1872). Egli notò la forte differenza della quantità di ossigeno che a parità di temperatura si scioglie nelle acque dei vari mari, data la diversa composizione salina.[1]

JACOBSEN dalle analisi di campioni presi in profondità dedusse che in ciascun punto del mare l'acqua tiene disciolte le medesime quantità di gas che terrebbe disciolte alla superficie, ma a una temperatura corrispondente a quella del punto considerato. Egli concluse che l'acqua degli abissi oceanici deve essere stata una volta a contatto con l'atmosfera a una temperatura simile a quella che ha attualmente, e che ha assorbito l'aria corrispondentemente a quella temperatura.

Questo comportamento è regolarissimo per l'azoto, un poco meno per l'ossigeno. Quanto alla anidride carbonica la si trova in maggior quantità negli abissi.

Dai dati esposti risulta che gli animali marini sopportano tensioni parziali di ossigeno molto più elevate che i terrestri e che gli animali abissali sopportano una maggiore quantità di anidride carbonica.

Per riprodurre artificialmente le condizioni abissali il metodo migliore sarebbe di ricorrere a un torchio idraulico, dopo aver raffreddato una determinata massa d'acqua alla temperatura

---

[1] Mar Baltico 20°. Quantità $O_2\% = 10$; Mediterraneo 20°. Quantità $O_2\% = 40$.

L'JACOBSEN ha trovato una formula che ci dà l'O_2 in cm. 3 per litro a 0° e 760 mm. (T. = Temperatura; Cc. =Quantità di cloro):

$$O_2 = 10{,}062 - 0{,}2822\ T + 0{,}006144\ T^2 - 0{,}000061\ T^2\ Cc.$$
$$(0{,}1073 - 0{,}003586\ T - 0{,}000055\ T^2).$$

(Riporto questi dati dal fondamentale lavoro del KRUMMEL, 1907).

che ha nelle profondità considerate. Se, riprodotte con questo mezzo tutte le condizioni dell'ambiente abissale, si facesse vivere un pesce per un certo tempo in questo volume necessariamente piccolo di acqua, le proporzioni dei gas ben presto si altererebbero diminuendo l'ossigeno e aumentando l'anidride carbonica, fino a condurre assai rapidamente l'ambiente a condizioni incompatibili con la vita animale.

Occorrerebbe, per ovviare l'inconveniente, che vi fosse un continuo ricambio di acqua. Ma un ricambio di acqua in un recipiente sottoposto a una diecina di atmosfere [1] è una cosa di realizzazione troppo complicata, dato che il fatto che una diminuzione un po' brusca di pressione uccide l'animale per liberazione di azoto nei tessuti, specialmente nel sistema nervoso.

Per mantenere gli animali acquatici a pressioni elevate senza che si producano in breve tempo condizioni di asfissia, ho pensato di esercitare una pressione sul liquido, non con un torchio idraulico, ma con una massa di aria. Si ha così una riserva di ossigeno che si scioglie nell'acqua via via che l'animale lo consuma. Dato il p*H* leggermente superiore a 7 dell'acqua marina, una parte dell'anidride carbonica prodotta dall'animale viene fissata; il rimanente non si accumulerà solamente nell'acqua, ma si diffonderà anche nell'aria soprastante.

Effettuando un lento ricambio dell'aria soprastante (cosa molto più semplice, sotto forti pressioni, di un ricambio d'acqua) si deve poter mantenere il liquido a pressioni elevate in condizioni da permettere lo svolgersi normale della vita per lungo tempo.

Con un dispositivo, che più oltre descriverò, ho potuto infatti mantenere in ottime condizioni di vita e sotto pressione di 10 atmosfere parecchie anguille per oltre un mese, in soli 15 litri d'acqua, ottenendo, alla fine dell'esperienza, dall'ana-

---

[1] Farà meraviglia che io parli di una diecina di atmosfere volendo riprodurre condizioni abissali, mentre una simile pressione si trova a solo un centinaio di metri di profondità. Anche se un effetto massimo è prodotto dalla pressione con intensità molto maggiore, non è detto che l'effetto non possa farsi risentire (sia pure ridotto) anche ad intensità minori. Ho fatto questa induzione dal confronto con le specie nelle quali la spermatogenesi è collegata al fattore temperatura, nelle quali esiste una temperatura *optimum* ed un limite inferiore, passato il quale non avviene la spermatogenesi, ma con un campo d'azione fra *soglia* e *optimum* vastissimo.

lisi dell'aria soprastante, eseguite nel Laboratorio di Chimica Biologica di questa R. Università, con una pressione dell'aria nelle bombole di 10 atm. ed una pressione del campione esaminato di mm. Hg 758,40, un percento di CO_2 del 0,82 e di O_2 del 19,35.

Come era da prevedere, in una esperienza durata un mese, vi è un forte aumento dell'anidride carbonica, ma esso non è tale da essere dannoso all'individuo; ho già fatto osservare del resto che i pesci abissali sopportano verosimilmente forti dosi di anidride carbonica.

L'ossigeno è diminuito, ma si trova sempre in abbondanza.

La tensione parziale dell'ossigeno nell'aria compressa a 10 atmosfere è molto rilevante: circa 2 $\frac{1}{2}$ atmosfere. In animali a respirazione aerea, sottoposti a tale pressione di ossigeno, si verificano disturbi gravissimi che portano, per pressioni di poco maggiori, anche alla morte. Nel caso di un animale acquatico abituato a respirare in un ambiente nel quale il rapporto fra ossigeno e gas inerti è il doppio che nell'aria, questi disturbi per l'aumento di pressione dell'ossigeno dovrebbero verificarsi solo per tensioni molto maggiori. L'avere potuto mantenere animali per oltre un mese in queste condizioni speciali, senza apparenti disturbi, mi sembra comprovi questa supposizione.

L'ambiente artificiale così prodotto permette, è vero, la vita, ma in realtà diversifica in molti punti dall'ambiente abissale, perchè a parità di pressione, nelle profondità oceaniche la quantità di gas contenuta corrisponde a quella che si scioglierebbe a saturazione, ad uguale temperatura, alla pressione di una atmosfera; mentre nell'acqua del mio apparecchio corrisponde alla quantità che produce la saturazione a quella stessa temperatura, ma a 10 atmosfere. Nell'apparecchio che ha servito alle mie esperienze, per quella data pressione, l'acqua è satura d'aria; negli abissi, per quella stessa pressione, l'acqua non si trova in condizioni di saturazione.

Esistono perciò nelle mie esperienze, non lo nascondo, condizioni che profondamente diversificano da quelle naturali. Ma ho creduto che valesse la pena di impiantare le esperienze anche con questa prevista deficienza, perchè i risultati potranno comunque fornire qualche indicazione per future ricerche del genere.

Il mio apparecchio consiste in una comune bombola di ossigeno di 25 litri nella quale ho fatto praticare una larga apertura circolare di 7 cm., che può essere chiusa con un dado a vite capace di reggere forti pressioni. Ho rivestito internamente la bombola con uno strato di paraffina. Per uno spazio corrispondente a 4 litri ho introdotto della sabbia finissima lavata; vi ho versato poi 11 litri di acqua di mare artificiale; rimangono quindi nella bombola 10 litri d'aria. Ho preparato l'acqua di mare artificiale col metodo usato dall'Acquario di Milano (SUPINO, 1926). Posti gli animali nella bombola, stringo fortemente il dado dopo avere ravvolto la vite con cotone tuffato nel sego fuso; solo così si ottiene una chiusura perfetta, cosa molto difficile date le dimensioni del dado. Con una buona pompa aumento gradatamente la pressione portando in dodici ore l'ambiente a 5 atmosfere, dopo dodici ore di sosta elevo gradatamente (in oltre dodici ore) la pressione fino a 10 atmosfere. Lascio invariato il sistema per sette giorni, quindi, ogni tre giorni, fino al quindicesimo, e poi ogni due giorni fino al trentesimo, diminuisco la pressione a 9 atmosfere (gradatamente in dodici ore) e la rielevo a 10 atmosfere introducendo nuova aria (più rapidamente, in due o tre ore).

Per estrarre gli animali, dapprima diminuivo lentamente la pressione, secondo le regole fisiologiche che si applicano ai palombari, cioè dimezzavo la pressione ad intervalli regolari (diminuzione in dodici ore e sosta di dodici ore); è stato dimostrato infatti, che le lesioni prodotte dallo svolgersi dell'azoto nell'organismo sono pressochè uguali ogni volta che la pressione si riduce a metà. Con questo procedimento ho estratto gli animali vivi, apparentemente in condizioni normali. Ma poichè le mie ricerche riguardavano gli organi sessuali, organi riccamente vascolarizzati, e quindi meno danneggiati generalmente dallo svolgersi dell'azoto, che specialmente si libera nei grassi e nei lipoidi del sistema nervoso, ho poi preferito, per poter esaminare subito gli esemplari, svuotare rapidamente la bombola in una mezza giornata. Le anguille così estratte danno ancora segni di vita, ma l'azione distruttrice dello sviluppo dei gas le porta rapidamente alla morte.

Faccio notare un fenomeno interessante che non mi risulta finora descritto, a proposito dell'azione patologica delle dimi-

nuzioni rapide di pressione. L'organo dove lo sviluppo dell'azoto è più imponente è l'occhio, o, con maggior precisione, l'umor acqueo e vitreo. Una semplice puntura riporta l'occhio alle condizioni normali.

Le prime prove furono rivolte a vedere se le condizioni realizzate nella bombola erano compatibili con la vita ; le ho eseguite, sia con piccole anguille gialle, che con anguille argentine, per lunghezze di tempo sempre maggiori (da 1-2-3-4 settimane) ottenendo sempre risultati positivi ; le anguille sia argentine che gialle resistevano benissimo alle condizioni della bombola.

Ho eseguito la prima esperienza rivolta allo studio degli organi sessuali con anguille che avevano appena iniziato la divisa argentina. I tubuli testicolari erano ben sviluppati, ma formati quasi esclusivamente di spermatogoni primari. Ho scelto quattro esemplari delle medesime dimensioni e provenienza, li ho misurati, pesati e tatuati per riconoscerli.

Su una di queste quattro anguille ho eseguito l'operazione Mazza, facendo preparati istologici del lobo di testicolo estratto. La ferita operatoria di questa anguilla era di appena un centimetro. L'animale non ha avuta emorragia forte. Ho eseguito l'operazione su un solo dei quattro individui dubitando che le turbe dell'operazione potessero influire sui risultati dell'esperienza.

Le quattro anguille, di cui una operata, sono rimaste nella bombola quindici giorni a 10 atmosfere. Svuotata la bombola tre erano vive, una morta, certo da poche ore. Ho eseguiti i preparati istologici di tutti gli individui. Il testicolo è risultato identico in tutti gli esemplari. Descriverò quindi solo le diversità esistenti fra il lobo estratto con l'operazione Mazza dal rimanente del testicolo osservato dopo quindici giorni di pressione.

Ho fatto anche, per verifica, preparati in altre anguille della stessa mandata tenute in vasca di giardino. In queste ultime il testicolo presentava aspetto poco diverso dal lobo estratto dall'anguilla operata ; erano però aumentati i nidi di spermatogoni secondari. Il lobo estratto dall'anguilla prima dell'esperienza presentava un gran numero di spermatogoni primari, un piccolo numero di secondari, qualche cellula genitale degenerata, esponente di incipiente prespermatogenesi e alcuni ovociti sparsi qua e là fra i tubuli.

Invece il testicolo, dopo che l'animale è stato quindici giorni sotto pressione, appare profondamente modificato: quasi tutti gli spermatogoni primari presentano fenomeni degenerativi come quelli che sono stati descritti nel capitolo precedente. Uguali degenerazioni hanno colpito gli spermatogoni secondari (Tav. VII, fig. 67); gli ovociti sono rimasti normali.

Faccio notare che degenerazioni di questo genere, specialmente negli spermatogoni secondari, accadono anche in anguille argentine impedite di migrare, ma lentamente; e sono ben osservabili solo dopo alcuni mesi.

Ma ritengo che i due fatti possono essere differentemente interpretati: nel caso delle anguille imprigionate nell'acqua dolce si tratta, verosimilmente, di un tentativo abortivo al posto della normale spermatogenesi che non può effettuarsi; nel caso delle anguille della bombola di un tentativo che avviene prima del completo sviluppo del testicolo e che quindi può essere ascritto alla prespermatogenesi.

Ho fatto un secondo gruppo di esperienze sottoponendo per un mese a 10 atmosfere anguille argentine con divisa perfettamente sviluppata, provenienti da Castiglion della Pescaia. Delle anguille a me giunte, circa una ventina, una presentava occhi molto più dilatati delle altre e corrispondentemente era nel suo testicolo completamente avvenuta la formazione degli spermatogoni secondari. Numerosi nidi di cellule genitali impegnati nella prespermatogenesi apparivano completamente degenerati; alcuni piccoli nidi erano formati da spermatociti in auxocitosi; infine si vedevano numerosi gruppi di spermi normali. Nelle altre anguille tutte al medesimo grado di evoluzione, era quasi completa la formazione degli spermatogoni secondari, ma mancavano spermatociti in auxocitosi e solo in alcune e rarissimamente vi era qualche spermio.

Ho mantenuto nella bombola per un mese a 10 atmosfere sei anguille di questo secondo gruppo; altre due le ho tenute alla stessa temperatura in acqua marina artificiale ed alcune altre in giardino in acqua dolce.

Le sei anguille, alla fine dell'esperienza, erano tutte vive e avevano accentuato fortemente i colori della divisa argentina. In quattro di esse i testicoli non appaiono modificati in maniera notevole; forse vi è un leggero aumento dei nidi in presperma-

togenesi. Non posso affermare questo con sicurezza non avendo precedentemente operato le anguille[1] per eseguire la biopsia preliminare.

Un esemplare presenta la completa degenerazione degli spermatogoni secondari e alcuni gruppi di spermi normali. In qualche punto sono avvenute trasformazioni del tipo di quelle dell'esemplare seguente.

Il sesto individuo presenta in nidi minori numerosi spermi anormali. In molti punti i gruppi di spermi si agglutinano degenerando (Tav. VII, fig. 68).

Le anguille di verifica, tenute in acqua di mare a temperatura corrispondente a quella delle bombole (circa 9°), presentavano qualche degenerazione degli spermatogoni secondari, ma in misura molto ridotta. Il medesimo fatto, ancora meno accentuato, si verifica in quelle tenute in acqua dolce in giardino.

Non si può, per le ragioni esposte in principio, trarre dalle presenti ricerche conclusioni affrettate e tanto meno saprei decidere sulla precisa natura dei caratteri strutturali dei corpi genitali delle anguille sottoposte all'esperimento.

È infatti difficile stabilire in maniera assoluta se si tratta di fatti puramente patologici determinati dal solo disagio ambientale oppure da fatti normali dipendenti dalla pressione.

Certamente le condizioni speciali cui sono state sottoposte le anguille hanno esercitata un'azione sulla loro spermatogenesi. Questa azione stimola un buon numero di cellule genitali, in tutti gli stadi, verso fenomeni evolutivi che peraltro sono destinati ad abortire.

Le anguille mantenute in vita sotto pressione (se le immagini da me vedute non vanno interpretate come fatti di degenerazione banale) presenterebbero in maggiore quantità, intensità e varietà di quelle di verifica, fenomeni riportabili alla spermatogenesi abortiva la quale, come sappiamo e come ho detto in principio, si ritiene precedere la spermatogenesi definitiva.

[1] Le anguille con la divisa argentina così accentuata, sono molto più sensibili delle altre all'operazione: la mortalità è forte e temevo di compromettere l'esperienza che doveva durare un mese.

CONCLUSIONI GENERALI.

I corpi genitali delle ceche appaiono di struttura simile in tutti gli individui, senza caratteri istologici che possano essere interpretati come differenziali del sesso, e le cellule genitali di tipo primordiale in essi contenute (i protogoni) non si moltiplicano durante tutto il periodo di ceca.

Per mezzo del conteggio dei protogoni di un tratto costante dell'abbozzo dei corpi genitali ho ricavato l'indice numerico di un certo numero di ceche di varie dimensioni. Questo indice numerico non varia nelle ceche col loro variare di dimensioni; mentre le ceche più lunghe hanno un numero assoluto di protogoni maggiore delle ceche più corte.

I protogoni in varia proporzione degenerano, e ceche lunghe, per forte degenerazione protogoniale, possono risultare provviste di un numero di protogoni uguale o inferiore a quello di una ceca corta.

Misurando il diametro massimo del nucleo di cento protogoni in ceche di varia lunghezza ho riscontrato che esistono protogoni maggiori con diametro del nucleo di 7,7 μ-8,8 μ e protogoni minori con diametro del nucleo di 5,5-6,6 μ. Ritengo verosimile che i protogoni minori provengano da più recente moltiplicazione dei protogoni maggiori, forse avvenuta allo stadio di leptocefalo; e pertanto, avendo notato che i protogoni a nucleo maggiore diminuiscono rapidamente di numero via via che consideriamo ceche maggiori, mentre aumenta la percentuale dei nuclei più piccoli, ne trarrei la conclusione che nelle ceche lunghe i protogoni sono di alcune generazioni posteriori ai protogoni delle ceche corte.

Mediante l'osservazione del comportamento dell'indice numerico dei protogoni ho potuto stabilire che il ritmo della riproduzione dei protogoni, durante il primo periodo dello sviluppo delle anguille, è dapprima lento, poi diviene più rapido, seguendo quasi esattamente un ramo di iperbole, se riportato sopra un sistema di coordinate cartesiane e confrontato con la lunghezza del corpo.

In base al comportamento dell'indice numerico credo di poter riconoscere fin dai 9 cm. di lunghezza alcuni segni di differenziamento sessuale, essendo resultato dalle presenti ricerche che una precoce moltiplicazione protogoniale ed un indice numerico molto elevato (che non può essere inscritto nella curva) sono probabili indizi di femminilità.

In conseguenza ritengo che fin dai primi periodi di sviluppo possono essere differenziate due categorie di anguille: anguille di tipo *A*, nelle quali il numero dei protogoni è fin dai primi stadi assai maggiore di quello che non comporti la curva dell'indice numerico; e anguille di tipo *B*, nelle quali il numero cresce gradatamente e rapidamente, dai 14 ai 19 cm.

Le anguille del tipo *A*, nelle quali fra i 14 e i 19 cm. incomincia un attivo processo ovogenetico, danno origine, secondo me, a quelle anguille di precoce differenziazione che furono già identificate per femmine dal FREUD e dal GIACOMINI intorno alla lunghezza di 20 cm., e che rappresenterebbero circa il 10 % della massa totale. Esse proverrebbero dalle ceche lunghe.

In tutte le anguille di tipo *B* insorge fra i 19 e gli 80 cm. una ovogenesi giovanile, rappresentata da nidi di ovociti e da ovociti isolati nella compagine del corpo genitale, la quale peraltro può variare da individuo a individuo per precocità di comparsa, intensità e persistenza. Sulla evoluzione di questa ovogenesi influirebbe la insorgenza di degenerazioni, e su queste pare che possa influire a sua volta il nutrimento e le condizioni di ambiente.

In tutte le anguille del tipo *B* si notano inoltre segni di lenta e graduale mascolinizzazione rappresentati da un abbozzo di canale deferente, da un lento ordinarsi di gruppi di protogoni in file continue, dall'assunzione da parte della gonade di una forma a rosario.

Senonchè in un certo numero di anguille del tipo *B*, che riunisco nel sottogruppo *B 1*, pur presentando il corpo genitale segni di mascolinità, quando il corpo ha raggiunto la lunghezza di circa 27 cm., si nota una preponderanza di ovogenesi che finisce per stabilirsi. Si formano in questa maniera femmine di tardiva differenziazione, che nei luoghi a *sex-ratio* normale costituirebbero circa il 40 % della massa totale delle femmine.

Nelle restanti anguille del tipo *B*, che riunisco nel sotto-

gruppo *B 2*, la mascolinità si consolida invece mediante un rapido processo evolutivo rappresentato da un completamento dei canali testicolari, da moltiplicazione attiva delle cellule genitali e da formazione delle prime generazioni spermatogoniali. In questa maniera si formano i maschi.

Le differenze regionali nella proporzione dei sessi dipendono dalle differenze nella ripartizione dei sottogruppi *B 1* e *B 2*, sulla quale ripartizione sembra che molto influisca l'intensità degenerativa delle cellule genitali, che avviene nelle prime età dell'anguilla.

La formazione della divisa argentina precede la completa evoluzione maturativa del testicolo, e non credo che possa essere influenzata dall'ormone testicolare.

Tenuto conto delle presenti ricerche e di quelle di altri autori nei Pesci, ritengo che il processo di differenziazione dei sessi nell'anguilla, e forse dei Pesci in genere, si compia secondo modalità non molto dissimili da quelle ammesse per gli Anfibi.

L'ovogenesi dell'anguilla può essere seguita solo fino all'inizio della ricostituzione nell'ovocita del filamento cromatico. Tuttavia ritengo di avere raccolto sufficienti elementi per ammettere che il processo si compia secondo lo schema ormai abbastanza conosciuto negli Anfibi.

Le sinapsi non rappresentano uno stadio normale del processo auxocitario, ma sono piuttosto artefatti dipendenti da speciale sensibilità del contenuto nucleare di fronte ai reagenti chimici in determinati momenti funzionali.

Ritengo che nella maggioranza dei casi dal leptotene ordinato si passi direttamente al diplotene.

Durante l'accrescimento dell'ovocita esiste continuità del filamento cromatico.

Sembra possibile, eccezionalmente, un abbreviamento del processo ovogenetico con passaggio dai protogoni direttamente agli ovociti, senza una interposta moltiplicazione ovogoniale.

Nel citoplasma dei protogoni e degli ovogoni si riconoscono particolari granuli siderofili che già furono veduti in altri Pesci da vari autori. Non credo che i corpi siderofili (corpi pirenoidi dello CHAMPY) possano esser considerati, come hanno fatto vari autori, di origine nucleare.

Esistono nel citoplasma dei giovani ovociti di anguilla particolari inclusi filamentosi, corrispondenti a formazioni simili già descritte negli ovociti di altri Pesci ed Uccelli, che, secondo me, verosimilmente derivano da trasformazione dei granuli e corpi siderofili. Non ritengo giusto riportare gli inclusi filamentosi nè alla categoria delle formazioni condriosomali nè all'apparato reticolare del Golgi.

Sono riuscito, come tutti i ricercatori precedenti, a riconoscere solo in parte il ciclo spermatogenetico dell'anguilla. Il testicolo di anguilla è di tipo sincrono.

Quando le anguille stanno assumendo la divisa argentina si osservano nel testicolo numerose trasformazioni degenerative delle cellule genitali; le quali precedono la spermatogenesi normale, e corrispondono sia alla prespermatogenesi degli Amnioti sia ai conati abortivi di spermatogenesi, che anche negli Anfibi precedono il processo normale. Ho illustrato complessi processi degenerativi delle cellule genitali del testicolo, che io sarei propenso a considerare, almeno in parte, come tentativi di abbreviamento del ciclo spermatogenetico.

Ho tentato il conteggio dei cromosomi delle divisioni protogoniali, ovogoniali e spermatogoniali. È ovvio che nella impossibilità di catturare anguille mature sessualmente, il conteggio non può essere fatto che durante le divisioni riduzionali. Il conteggio è ostacolato dalla presenza dei corpi siderofili, e però non sono riuscito a stabilire con precisione se il numero fondamentale diploide sia, come sembra, 36.

Neppure ho potuto riconoscere con sicurezza se esistano o non esistano differenze cromosomiali fra il maschio e la femmina.

Con un primo tentativo di sottoporre sperimentalmente anguille argentine a pressione prolungata ho osservato nel testicolo particolarità strutturali; le quali, qualora non dovessero essere interpretate come banali degenerazioni, potrebbero essere considerate incipienti processi di prespermatogenesi la quale di regola precede l'ondata spermatogenetica generale. In tal caso si potrebbe dedurre che la pressione sia dei fattori che provoca nelle anguille migrate in mare la maturazione sessuale.

BIBLIOGRAFIA.

ADLER L. *Metamorphosenstudien an Batrachierlarven.* II: *Der Einfluss überreifer Eier.* « Arch. Entw. Mech. Berlin », Bd. 43, 1917.

AIDA T. *On the inheritance of color in the fresh water fish, Aplocheilus platipes, with special reference to sexlinked inheritance.* « Genetics Menasha », vol. 6, 1921.

— *Further genetics studies of Aplocheilus latipes.* « Ibid. », Bd. 15, 1930.

ALLEN B. M. *The origin of the sex-cells of Amia and Lepidosteus.* « Anat. Rec. Philadelphia », vol. 3, 1909.

— *Idem.* « J. Morph., Philadelphia », vol. 22, 1911.

AVEL M. *Vacuome et appareil Golgi chez les Vertébrés.* « C. R. Acad. Sc. Paris », vol. 180, 1925.

BALLOWITZ A. *Eine Bemerkung zu den von Golgi und seinen Schülern beschriebenen Apparato reticolare interno der Ganglien und Drüsenzellen.* « Anat. Anz. », Bd. 18, 1900.

BARTELS W. *Zur Kenntnis der mikroskopischen Anatomie von Leptocephalus brevirostris in Vergleich zum jüngsten Flussaal.* « Jena Z. Naturw. », Bd. 58, 1922.

BATTAGLIA F. *Ricerche istologiche e istochimiche sui testicoli dei Selaci.* « Riv. Biol. », vol. 7, 1925.

BEARD J. *The morphological continuity of the germ-cells in ' Raya batis '.* « Anat. Anz. », Bd. 18, 1900.

— 1. *The numerical Law of the Germ-cells.* « Ibidem », Bd. 21, 1902.

— 2. *The germ-cells of Pristiurus.* « Ibid. », Bd. 21, 1902.

BEAUMONT (DE) J. *Les caractères sexuels du Triton et leur déterminisme, masculinisation et féminisation.* « Un. de Genève. Facult. Sc. », Thèse 846, 1929.

BECCARI N. 1. *Studi sulla prima origine delle cellule genitali nei Vertebrati.* I: *Storia delle indagini e stato attuale della questione.* « Arch. ital. Anat. Embriol. », Firenze, vol. 18, 1921.

— 2. *Idem.* II: *Ricerche nella ' Salamandrina perspicillata'.* « Ibid. », vol. 18, Suppl., 1921.

— *Idem.* III: *Ricerche nel ' Bufo viridis '.* « Ibid. », vol. 21, 1924.

— *Ovogenesi larvale, organo del ' Bidder ' e differenziamento sessuale in ' Bufo viridis '.* « Ibid. », vol. 22, 1925.

— *Il problema del differenziamento del sesso negli Anfibi.* « Arch. Fisiol. », Firenze, vol. 12, 1926.

— 1. *Dati e considerazioni sulla natura dell'organo del ' Bidder ' dei Bufonidi.* « Arch. ital. Anat. Embriol. Firenze », vol. 26, 1929.

— 2. *La inversione sperimentale del sesso nei Vertebrati.* « Boll. Soc. ital. Biol. sper. », vol. 4, 1929.

— *Ovociti nella rigenerazione di innesti testicolari eteroplastici omosessuali del ' Triton cristatus '.* « Boll. Soc. ital. Biol. sper. », vol. 5, 1930.

— *A proposito di nomenclatura nello studio delle cellule genitali degli Anfibi.* « Monit. zool. ital. », Firenze, vol. 42, Suppl., 1932.

Bellini A. *Esperienze di anguillicoltura.* « Atti del III Congr. Naz. della Pesca, Milano », 1906.
— *L'anguilla maschio. Contributo alla storia genetica dell' ' Anguilla vulgaris '.* Comacchio, 1905.
Böhi U. *Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Leibeshöhle und der Genitalanlage bei den Salmoniden.* « Gegenbaurs morph. Jahrb. Leipzig », Bd. 32, 1904.
Bonisset. *Maturité sexuelle précoce du Saumon* (' *S. salar* '). « C. R. Soc. Biol., Paris », 98, 1928.
Born G. *Die Struktur des Keimbläschens im Ovarialei von ' Triton taeniatus '.* « Arch. mikr. Anat. Bonn », Bd. 43, 1895.
Bouin M. *Histogenèse de la glande génitale femelle chez ' Rana temporaria '.* « Arch. Biol. Liège », vol. 17, 1900.
Brock J. *Untersuchungen über die Geschlechtsorgane einiger Muraenoiden.* « Mitth. Z. Stat. Neapel. », Bd. 2, 1881.
Brunelli G. e Rizzo L. *Ghiandola esocrina, ovario impari e ermafroditismo della ' Perca fluviatilis '.* « Rend. R. Acc. Lincei », S. 6, vol. 7, 1928.
Butcher. *The origin of the germ cells in the lacke-lamprey* (' Petromyzon marinus '). « Biol. Bull. Woods Hole », vol. 56, 1929.
Carnoy et Lebrun. *La cytodiérèse de l'oeuf, etc.* « Cellule Louvain », vol. 12, 1897.
— *Idem.* « Ibid. », vol. 14, 1898.
Champy C. *Recherches sur la Spermatogenèse des Batraciens.* « Arch. Zool. exp. gen. Paris », vol. 52, 1913.
— *Changement expérimental du sexe chez le ' Triton alpestris Laur. '* « C. R. Acad. Sc. Paris », vol. 172, 1921.
— *Observations citologiques sur les ovocites des Poissons et de quelques autres Vertébrés.* « Arch. Anat. micr. Paris », vol. 19, 1923.
— *Sexualité et hormones*, Paris, Doin, 1924.
Chevey P. *Observations sur une Perche hermafrodite* (' Perca fluviatilis '). « Bull. Soc. Zool. France », vol. 47, 1922.
Courrier R. 1. *Glande interstitielle du testicule et caractères sexuels secondaires chez le Poissons.* « C. R. Acc. Sc. Paris », vol. 172, 1921.
— 2. *Sur l'existence d'une glande interstitielle dans le testicule des Poissons.* « C. R. Soc. Biol. Paris », vol. 85, 1921.
— *Sur l'existence d'une glande interstitielle dans le testicule des Blennies.* « Bull. Soc. Zool. France », vol. 47, 1922.
Cunningham J. T. *On the histology of the ovarial ova of certain marine fishes.* « Quart. J. Mic. Soc. », vol. 40, 1898.
D'Ancona U. *Effetti dell' inanizione sul tubo digerente dell'anguilla.* « Mem. Com. Talassogr. Ital », Mem. 81, 1921.
— 1. *Sulla determinazione del sesso nell'anguilla.* « Ibid. », Mem. 111, 1924.
— 2. *Intorno al differenziamento del sesso nell'anguilla.* « Rend. R. Acc. Lincei », S. 5, vol. 33, 1924.
— *Apodes ; Uova, larve e stadii giovanili di Teleostei.* « Fauna e Flora Napoli », Mon. 38, 1931.
De Beer G. R. *Note on a hermaphrodite trout.* « Anat. Rec. Philadelphia », vol. 27, 1924.

De Castro E. *Sulla struttura dell'ovario dei Teleostei.* « Arch. ital. Anat. Embriol. Firenze », vol. 16, 1918.

D' Hollender F. *Les pseudocromosomes dans les oogones et les oocites des Oiseaux.* « Bibl. Anat. », vol. 13, 1904.

Dodds G. S. *Segregation of germ-cells of the teleost Lophius.* « Journ. Morph. Philadelphia », vol. 21, 1910.

Eidmann H. *Ueber Wachstumsstörungen bei Amphibienlarven.* « Arch. Entw. Mech. Berlin », Bd. 49, 1921.

Eigenmann C. H. *The prococious segregation of the sex cells in Cymatogaster aggregatus.* « J. Morph. Philadelphia », vol. 5, 1892.

— *Sex differentiation in the viviparous Teleost Cymatogaster.* « Arch. Entw. Mech. Berlin », vol. 4, 1896.

Essemberg I. M. *Sex differentiation in the viviparous teleost. ' Xiphophorus helleri '.* « Biol. Bull. Woods Hole », vol. 45, 1923.

— *Complete sex-reversal in the viviparous teleost ' Xiphophorus helleri '.* « Biol. Bull. Woods Hole », vol. 51, 1926.

Federow V. *Ueber die Wanderung der Genitalzellen bei ' Salmo fario '.* « Anat. Anz. », Bd. 31, 1907.

Felix W. und Bühler A. *Die Entwicklung der Keimdrüsen und ihrer Ausführungsgänge.*, in « Hertwig's Handb. vergl. u. exp. Entwick. Wirbeltiere », Bd. 3, Th. 1, 1906.

Fick R. *Einiges über Vererbungsfragen.* « Abh. preuss. Akad. Wiss », N. 3, 1924.

Foley I. O. *The spermatogenesis of Umbra limi, with special reference to the behaviour of the spermatogonial cromosomes and the first maturation.* « Biol. Bull. Woods Hole », vol. 50, 1926.

Freud S. *Beobachtungen über Gestaltung und feineren Bau der als Hoden beschriebenen Lappenorgane des Aals.* « Sitz. Ber. K. Akad. Wiss. Wien », Bd. 80, I Abth., 1877.

Galgano M. 1. *Osservazioni e considerazioni ai processi spermatogenetici normale ed aberrante di Rana esculenta.* « Monit. zool. ital. Firenze », vol. 42,1931.

— 2. *Il problema della esistenza del cromosoma del sesso in ' Rana esculenta '.* « Ibidem », vol. 42, 1931.

— *Prime ricerche intorno alla influenza della temperatura sui processi spermatogenetici normale ed aberrante di ' Rana esculenta '.* « Ibidem », vol. 43, 1932.

Gandolfi Hornyold A. 1. *Experiencias sobre la reduccion de la anguila durante el desarrolo de la pigmentacion.* « Notas Res. Minist. Marine Dir. Gen. Madrid », S. 2, vol. 10, 1926.

— 2. *Observations sur les sexes des Anguilles.* « C. R. Ass. Franc. Av. Sc. », vol. 49, 1926.

— 3. *La nourriture de l'Anguille.* « Bull. Soc. Cent. Aquiculture Paris », vol. 33, 1926.

— *Observations sur le sexe et la croissance de la petite anguille des marais de la Grande Brière.* « Bull. Soc. Aquicult. Pêche-Clermont », 1928.

— *L'âge et la croissance de quelques anguilles jaunes de taille moyenne du haut Rhin.* « Rev. suisse Zool. Genève », vol. 36, 1929.

Gatemby I. R. *The Cytoplasmic inclusions of the germ cells.* II : *Helix aspera,* « Quart. Jour. Micr. Sc. London », vol. 62, 1917.

Geiser S. W. « *Sex ratio* » *and spermatogenesis in the Gambusia holbroocki.* « Biol. Bull. Woods Hole », vol. 47, 1924.

Giacomini E. *Sulla gonogenesi delle anguille (intorno all'epoca del differenziamento sessuale).* « R. Acc. Sc. Bologna », vol. 8, XII, 1907.

Goldschmidt R. *Die sexuellen Zwischenstufen.* Berlin, Springer, 1931.

Grassi B. *Ricerche sulle anguille argentine allevate forzatamente in acqua dolce.* « Rend. R. Acc. Lincei », S. 5, vol. 21, 1912.

— *Metamorfosi dei Murenoidi. Ricerche sistematiche ed ecologiche.* « Com. Talassogr. Ital. », Mem. 1, 1913.

— 1. *Quel che si sa e quel che non si sa intorno alla Storia naturale dell'anguilla.* « Com. Talassogr. Ital. », Mem. 37, 1914.

— 2. *Contributo alla conoscenza delle uova e larve dei Murenoidi.* « Mem. R. Accad. Lincei », S. 5, vol. 10, 1914.

— *Nuove ricerche sulla Storia naturale delle anguille.* « Com. Talassogr. Ital. », Mem. 67, 1919.

Grassi B. e Calandruccio. *Riproduzione e metamorfosi delle anguille.* « Giorn. Ital. Pesca e Acquic. », 1897.

Gübler H. *Zwei Fälle Zwittergonaden bei Clupea harengus.* « Zool. Anz. », Leipzig, Bd. 91, 1930.

Gurthrie M. J. *Cytoplasmic inclusions in cross-actived eggs of Teleosts.* « Z. Zellf. Mikr. Anat. Berlin », Bd. 2, 1925.

Guyènot E. L. et Ponse K. *Inversion expérimentale du tipe sexuel dans la gonade du Crapaud.* « C. R. Soc. biol. Paris », vol. 89, 1923.

Hahn A. *Einige Beobachtungen an Riesenlarven von 'Rana esclulenta'.* « Arch. mikr. Anatom. Bonn », Bd. 80, 1912.

Hann H. W. *The history of germ-cells of 'Cottus bairdii'.* « Journ. Morphol. Philadelphia », vol. 43, 1927.

— *Variation in spermatogenesis in the teleost family Cottidae.* « Ibidem », vol. 50, 1930.

Harms J. W. *Körper und Keimzellen.* Berlin, Springer.

Harvey J. A. *On the relation of the mitochondria and Golgi apparatus to yolk-formation in the egg-cells of the common earthworm, 'Lumbricus terrestris'.* « Quart. J. Mikr. Sc. London », vol. 69, 1925..

Hasselet. *Colorations vitales du condrione reticulaire.* « C. R. Soc. Biol. Paris », vol. 101, 1929.

Hecht S. *Form and growth in Fishes.* « J. Morphol, Philadelphia », vol. 27, 1916.

Heidenhain M. *Ueber Centralkapseln und Pseudochromosomen in den Samenzellen von Proteus sowie ihr Verhältnis zu den Idiozomen, Chondriomiten und Archoplasmaschleifen.* « Anat. Anz. », Bd. 18, 1900.

Held. *Befruchtung und Vererbung.* Leipzig, Engelmann, 1923.

Hertwig R. *Ueber den Einfluss der Ueberreife der Eier auf das Geschlechtsverhältnis von Fröschen und Schmetterlingen.* « Sitz. Ber. bayer. Akad. Wiss. », 1921.

Hirschler J. *Ueber die Plasma-componenter den weiblichen Geschlechtzellen.* « Arch. Mikr. And. Bonn », Bd. 89, 1917.

Hofmann C. K. *Zur Entwicklungsgeschichte der Urogenitalorgane bei Anamniern.* « Z. Wiss. Zool. Leipzig », Bd. 44, 1886.

HUMPHREY R. R. *Studies on sex reversal in Amblystoma.* II : *Sex differentiation and modification following orthotopic implantation of a gonadic preprimordium.* « J. Exp. Zool. Philadelphia », vol. 63, 1929.

KARPOWA L. *Beobachtungen über den Apparat Golgi (Nebenkern) in den Samenzellen von 'Helix pomatia'.* « Z. Zellf. Mikr. Anat. Berlin », Bd. 2, 1925.

KING H. D. *The oogenesis of Bufo lentiginosus.* « J. Morphol. Philadelphia », vol. 19, 1912.

KRÜMMEL O. *Handbuch der Ozeanographe.* Stuttgart, vol. I, 1907.

KULAEV S. *Beobachtungen über die Veränderungen der Hoden der 'Perca fluviatilis' im Laufe des Jahres.* « Rev. zool. russe Moscow. », vol. 73, 1927.

KUSCHAKEWITSCH S. *Ueber den Ursprung der Urgeschlechtszellen bei 'Rana esculenta'.* « Sitz. Ber. bayer. Akad. Wiss. », Bd. 38, 1908.

— *Die Entwicklungsgeschichte der Keimdrüsen von 'Rana esculenta'.* « Festschr. R. Hertwig », Bd. 2, 1910.

LEUPOLD E. *Die Bedeutung des Cholesterin-Phosphatidstoffwechsels für die Geschlechtsbestimmung.* Jena, Fischer, 1924.

LEUPOLD E. u. SEISSER. *Experimentelle Untersuchungen über die Bedentung des Cholesterinstoffwechsels für die weiblichen Keimdrüsen.* « Arch. Gynäkol. », Bd. 119, 1923.

LEVI G. *Sulla differenziazione del gonocita e dell'ovocita degli Anfibi con speciale riguardo alle modificazioni della vescicola germinativa.* « Arch. ital. Anat. Embriol. Firenze », vol. 4, 1905.

— *Trattato di Istologia.* U. T. E. T., Torino, 1927.

LOEWE. *Ueber Neu- und Rückb-Bildung im Ovarial-Ei von Maifisch ('Clupea allosa').* « Arch. Mikr. Anat. Bonn », Bd. 63, 1903.

LÜBBERT. *Weitere Messungen von nordischen Glasaalen.* Fischerbote, Bd. 3, 1911.

MAC LEOD. *Recherches sur la structure et le développement de l'appareil reproducteur femelle des Téléostéens.* « Arch. Biol. Liege », vol. 2, 1881.

MARÉCHAL I. *Ueber die morphologische Entwickelung der Chromosomen im Keimbläschen des Selachiereies.* « Ant. Anz. », Bd. 23, 1904.

— *Ueber die morphologische Entwickelung der Chromosomen im Teleostierei.* « Ibidem », Bd. 26, 1905.

MASCHKOWZEFF A. *Entwiklung des Urogenitalsystems bei den Knorpelganoiden.* « Ibidem », Bd. 59, 1924.

MAYENNE N. A *Beobachtungen über die Veränderungen des Eierstockes der 'Perca fluviatilis'.* « Rev. zool. russe Moscow. », vol. 7, 1927.

MAZZA F. *Sulla prima differenziazione delle gonadi e sulla natura delle uova nella 'Lebias calaritana'.* « Mon. Zool. Ital., Firenze », vol. 12, 1901.

— *Sul grado di sviluppo delle cellule germinali in quelle anguille distinte a Cagliari col nome 'Filatrotas'.* « Atti Congr. Nat. Ital. », Milano, 1906.

— 1. *Risultato di esperimenti fatti sopra alcune anguille argentate vissute forzatamente in acqua dolce.* « Rend. R. Acc. Lincei », S. 5, vol. 21, 1913.

— 2. *Risultati di ricerche anatomoistologiche sugli organi genitali delle anguille di acqua dolce e di acqua salmastra.* « Boll. della Soc. Zool. Ital. », Roma, vol. II, 1913.

— *Risultati ottenuti dall'ablazione parziale dell'organo di Syrski nelle anguille gialle o microftalme.* « Boll. Istit. Zool. », Roma, vol. I, 1923.

MAZZARELLI G. *Note critiche sulla biologia dell'anguilla.* « Riv. Pesca Idrobiol. », vol. 9, 1914.

MORTARA L. *Comparazione statistica fra due gruppi di anguille di diversa provenienza.* « Mem. Com. Talassogr. ital. », Mem. 51, 1915.

MRSIC W. *Di Spätbefruchtung und der Einfluss auf die Entwicklung und Geschlechtsbildung experimentell nachgeprüft an der Regenbogenforelle.* « Arch. Mikr. Anat. Bonn. », Bd., vol. 98, 1923.

NICHITA. *Atrésie folliculaire chez ' Girardinus lippyi '.* « C. R. Acad. Sc. Paris », T. 186, 1928.

NUSBAUM-HILAROWICZ J. *Quelques remarques sur les organes génitaux femelles de ' Gastrostomus cairdii '.* « Bulletin de l'Institut Océanogr. de Monaco », N. 313, 1915.

OKKELBERG P. *The Early History of the Germ cells in the Brock-Lamprey ' Entosphoenus wilderi ' up to, and including the period of sex differentiation.* « J. Morphol. Philadelphia », vol. 35, 1921.

PARAT M. et PAINLEVÉ. *Appareil réticulaire interne de Golgi ' trophospongie de Holgrem ' et vacuum.* « C. R. Accad. Sc. Paris », vol. 179, 1924.

PERRONCITO A. *Contributo allo studio della biologia cellulare. Mitocondri, cromidi e apparato reticolare interno delle cellule spermatiche.* « Mem. R. Accad. Lincei », vol. 8, 1914.

PHILIPPI E. *Fortpflanzungsgeschichte der viviparen Teleostier Glaridichtis januarius und decem-maculatus.* « Zool. Jahrb. Jena (Anat.) », Bd. 27, 1908.

PONSE K. *L'organe de Bidder et le déterminisme des caractères sexuels secondaires du crapaud (' Bufo vulgaris ').* « Revue Suisse de Zool. de Genève », vol. 31, 1924.

— *Ponte et développement d'oeufs provenant de l'organe de Bidder d'un Crapaud mâle féminisé.* « C. R. Soc. Biol. », Paris, vol. 92, 1925.

— *Le problème du sexe et l'évolution de l'organe de Bidder du Crapaud.* Proc. II. Intern. Congr. Sex. 1930, London, 1931.

REMOTTI E. *Su alcuni fenomeni che accompagnano la crisi di maturazione sessuale della Gambusia.* « Mon. zool. ital. Firenze », vol. 39, 1928.

RODOLICO A. 1. *Tentativi per provocare sperimentalmente la maturazione sessuale nei maschi argentini di anguilla.* « Boll. Soc. ital. Biol. Sper. », vol. 7, 1932.

— 2. *Curva peso-lunghezza e costanti relative nell'anguilla.* « Ibid. », vol. 7, 1932.

— 3. *Contributi alla miglior conoscenza di presunti caratteri differenziali del sesso nelle ceche.* « Ibid. », vol. 7, 1932.

— 4. *Caratteri differenziali del sesso nei corpi genitali delle anguille durante lo sviluppo.* « Ibid. », vol. 7, 1932.

ROMIEU. *Étude histologique du testicule du Plectognate ' Ortagoriscus '.* « C. R. Acad. Sc. Paris », vol. 176, 1923.

RÜCKERT J., *Die erste Entwicklung des Eies der Elasmobranchier.* Festschr, Kupffer.

SASAKI K. 1. *On the sex ratio in ' Carassius auratus '.* « Sc. Rep. Tohoku Imp. Univ. », 1926.

— 2. *On a formula for determining the weight ecc.* « Ibidem », 1926.

SCHMIDT. *Messungen von Mittelmeer-Glasaalen.* Fischerbote, Bd. 3, 1911.

SCHMIDT. *First Report on eel investigations 1913*. « Rapp. Cons. Explorat. Copenh. », vol. 18, 1913.

— *On the early Stages of the fresh-water eels, ecc.* « Medd. Komm. Haund Fisker», Bd. 5, 1916.

SCHMIDT J. *The genetic behaviour of a secondary sexual character.* « C. R. Lab. Carlsberg. Copenh. », vol. 14 (c. da Winge), 1920.

STARKS D. *The spermatogenesis of the Pribilof Seal ('Callorhinus alascanus').* « Am. J. Anat. Baltimore », vol. 40, 1932.

STIEVE H. *Die Entwicklung der Keimzellen des Grottenolmes ('Proteus').* II: *Wachstumsperiode der Oozite.* « Arch. Mikr. Anat. Bonn », Bd. 95, Abt. II, 1921.

— *Neuzeitliche Ansichten über die Bedeutung der Chromosomen, unter besonderer Berücksichtigung der Drosophilaversuche.* « Ergebn. Anat. Entw. », Bd. 24, 1922.

STROPOE I. *L'appareil de Golgi dans la vitellogenesis.* « C. R. Soc. biol. Paris », vol. 93, 1926.

SWINGLE W. W. *The germ cells of Anurans.* I: *The male sexual cyxle of 'Rana catesbeiana larvae'.* « J. exp. Zool. », vol. 32, 1921.

SYRSKI. *Ueber die Reproductionsorgane der Aale.* « Sitz. Ber. K. Akad. Wiss. Wien », Bd. 69, Abt. 1, 1874.

TERNI T. *Condriosomi, idiosoma e formazioni periidiosomiche nella spermatogenesi degli Anfibi.* « Arch. Zell. », Bd. 12, 1914.

TSCHASSOWNIKOV S. G. *Die Beziehungen der Golgi-Netze zum Protoplasma der Drüsenzellen und die Bedeutung der Zentralkörperchen für den Sekretionsprozess.* « Arch. russes Anat. Hist. Embriol. », vol. 8, 1929.

TURNER C. L. *The seasonal cycle in the spermatogenesis of the Perch.* « J. Morph. Philadelphia », vol. 32, 1919.

— *A case of Hermaphroditismus in the Perch.* « Anat. Rec. Philadelphia », vol. 37, 1927.

VAN DER STRICHT O. *Contribution à l'étude du noyau de Balbiani dans l'ovocite de la femme.* « Verh. Anat. Ges. Jena », Bd. 14, 1893.

VAN OORDT G. I. *Von der Veränderung des Hodens während des Auftretens der sekundären Geschlechtsmerkmale bei Fischen.* I: *'Gasterosteus pungitius'.* « Arch. mikr. Anat. Bonn. », Bd. 102, 1924.

— *Zur mikroskopischen Anatomie der Ovariotestes von 'Serranus' und 'Sargus'.* « Z. mikr. anat. Forsch. Leipzig », Bd. 19, 1929.

VOINOV D. *Deux costituants cellulaires; l'appareil de Golgi et les dictyosomes.* « C. R. Soc. Biol. Paris », vol. 99, 1928.

WALDEYER W. *Die Geschlechtszellen.* « Hertwig Handbuch Entwick. Wirbeltiere », Jena, 1906.

WEINER P. *Der Golgische Apparat bei der Ovogenese.* « Z. mikr. Anat. Forsch. », Leipzig, Bd. 4, 1925.

— *Vitale Beobachtungen über den Golgi Apparat bei der Ovogenesis der Regenwürmer 'Allobophora' und 'Eisenia'.* « Ibidem », Bd. 20, 1930.

WEISHAUPT. *Die Ontogenie der Genitalorgane von 'Girardinus reticulatus'.* « Wiss. Zool. Leipzig », Bd. 126, 1925.

WEISSENBERG R. *Das Reifewachstum der Gonaden bei 'Lampetra fluviatilis' und 'planeri'*. « Z. Mikr. Anat. Forsch. », Bd. 8, 1927.

WELTI E. *Le sort des autogreffes chez le crapaud.* « C. R. Soc. Phys. Hist. nat. Genève », vol. 40, 1923.

— *Évolution des greffes de glandes génitales chez le crapaud ('Bufo vulgaris') auto-homo heterogreffes.* « Rev. suisse Zool. Genève », vol. 35, 1928.

WHEELER W. M. *The development of the urogenital organ of the Lamprey.* « Zool. Jahrb. Jena (Anat.) », Bd. 13, 1899.

WINGE O. 1. *One sided masculine and sex-linked inheritance in 'Lebistes reticulatus'.* « J. Genet. Cambridge », vol. 12, 1922.

— 2. *Idem.* « C. C. Lab. Cartesberg. Copenh. », vol. 14, n. 18, 1922.

— *Crossing-over between the x and y cromosome in 'Lebistes'.* « J. Genet. Cambridge », vol. 13, 1923.

WITSCHI E. *Ueber Geschlechts-Differenzirung bei 'Rana temporaria'.* « Sitz. Ber. Ges. Morph. Physiol. München », 1913.

— 1. *Studien über die Geschlechtsbestimmung bei Fröschen.* « Arch. Mikr. Anat. Bonn », Bd. 86, Abt. II, 1914.

— 2. *Experimentelle Untersuchungen über die Entwickelungsgeschichte derKeimdrüsen von 'Rana temporaria'.* « Ibidem », Bd. 85, 1914.

— *Der Hermaphroditismus der Frösche und seine Bedeutung für das Geschlechtsproblem und die Lehre von der inneren Sekretion der Keimdrüsen.* « Arch. Entw. Mech. Organ. Berlin », Bd. 49, 1921.

— *Vererbung und Zytologie des Geschelchts nach Untersuchungen an Fröschen.* « Zeitschr. indukt. Abstamm. Vererb. Lehre », Bd. 29, 1922.

— *Eergebnisse der neueren Arbeiten über das Geschlechtsproblem bei Amphibien.* « Ibidem », Bd. 31, 1923.

YUNGERSEN H. F. S. *Beiträge zur Kenntnis der Entwickelung der Geschlechtsorgane bei den Knochenfischen.* « Arbeiter Zool. Zoot. Inst. Würzburg », Bd. 9, 1889.

ZONDEK S. G. *Die Hormone des Ovariums und des Hypophysen-Vorderlappens.* Berlin, Springer, 1921.

CURVA PESO-LUNGHEZZA E COSTANTI RELATIVE NELL'ACCRESCIMENTO DELL'ANGUILLA

Già da tempo si è pensato di studiare nei Pesci le modalità di accrescimento e in particolare la curva peso-lunghezza. Questa curva si ottiene riportando sopra un sistema di coordinate cartesiane il peso in grammi e la lunghezza in centimetri di un determinato numero di individui; si traccia quindi la curva in modo che passi vicino al maggior numero di punti. La curva così ottenuta è per qualsiasi pesce una parabola di terzo grado: $Y = aX^3$. Il coefficiente a è caratteristico di ciascuna specie pur variando leggermente secondo i luoghi e le stagioni.

Altro metodo per studiare il mutuo andamento del peso e della lunghezza è di osservare come varia l'indice che si ottiene facendo un rapporto fra la lunghezza e il peso.

SASAKI (1926) [1] dallo studio di questo indice ha dedotto la dimostrazione che esiste una forte differenza nel modo di accrescimento fra i due sessi del *Carassius auratus*. Questo risultato è paragonabile, secondo il Sasaki, a quello delle osservazioni del DONALDSOHN (1919) sul ratto albino, nel quale esiste una debole differenza fra gli indici dei due sessi. Negli altri Pesci finora studiati non sono state riscontrate simili differenze sessuali.

Vari Autori hanno studiato l'equazione $Y = aX^3$ nei Pesci.

---

[1] K. SASAKI, *On the sex-ratio in Carassius auratus*. « Sc. Rep. Tohoku Imp. Univ. », 1926.

A questo proposito riporto, togliendola dal lavoro del SASAKI, la seguente tabella :

SPECIE	a × 10^2	OSSERVATORI
Mustelus canis	0,274	HECHT (1916)
Brevoortia tyrannus	0,912	HECHT (1916)
Clupea sprattus	0,695	IENKINS (1902)
Clupea harengus	0,631	IENKINS (1902)
Anchovia brownii	0,709	HECHT (1916)
Anchovia mitchilli	0,618	HECHT (1916)
Peprilus alepidotus	1,70	HECHT (1916)
Cynoscion regalis	0,877	CROZIER e HECHT (1914)
Leiostomus xanthurus	1,15	HECHT (1916)
Orthopristis chrysopterus	1,30	HECHT (1916)
Pleuronectes playessa	1,07	JOHNSTONE (1912)
Carassius auratus	1,31	SASAKI (1926)

Nel caso dell'anguilla, in cui gli individui giovani vivono in condizioni ben diverse dagli adulti, ho sospettato che la curva dovesse avere un andamento con caratteristiche particolari; perciò di tutti gli individui che ho studiato per alcune mie ricerche sul differenziamento del sesso, ho misurato lunghezza e peso (nelle ceche con l'approssimazione al milligrammo).

Le anguille provenivano dalle località : mercato di Firenze, Rosano, Pontedera, Pisa (Valle dell' Arno), Maccarese, Castiglion della Pescaia. Gli stadi vanno da ceche lunghe 5 cm. ad anguille di 52 cm. Le misurazioni sono state 1262. Poichè la curva oltre le anguille di 30-40 cm. non si modifica più, il diagramma è stato riprodotto solo fino alla lunghezza di 40 cm.

Nel costruire la curva (fig. 4) ho cercato che gli individui per ciascuna grandezza fossero di provenienza molto varia; così facendo si allarga, è vero, la zona nella quale cadono i punti, ma le variazioni nella curva prodotte dai vari ambienti si neutralizzano tra loro e la curva viene ad assumere piuttosto un andamento caratteristico della specie.

La curva peso-lunghezza dell'anguilla non è continua, ma è formata da due branche di parabola di terzo grado, che differiscono tra loro per il coefficiente.

64
62
60
58
56
54
52
50
48
46
44
42
40
38
36
34
32
30
28
26
24
22
20
18
16
14
12
10
8
6
4
2
grammi
40
38
36
34
32
30
28
26
24
22
20
18
16
14
12
10
8
6
4
2

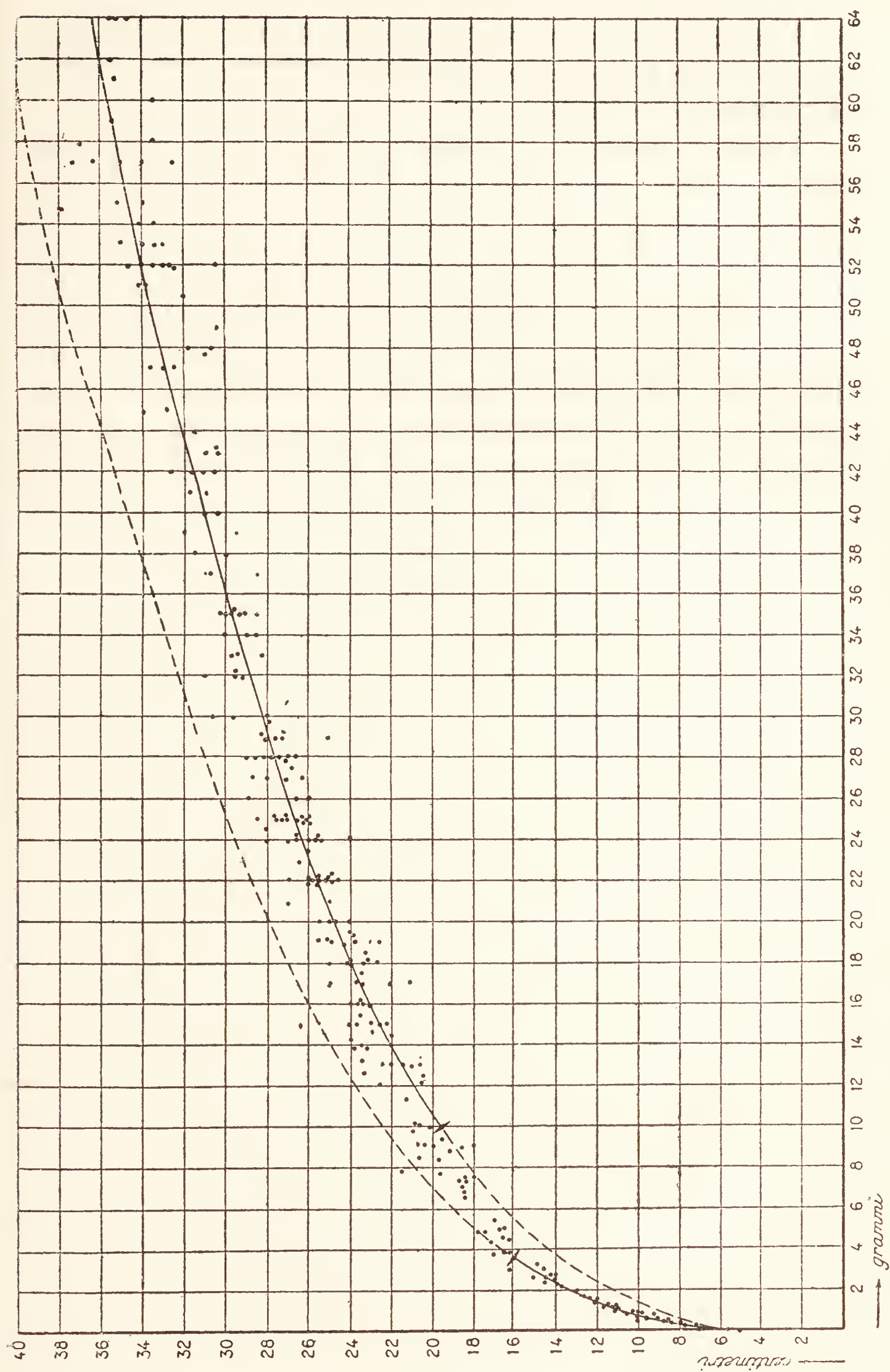



Fig. 4.

Il coefficiente di accrescimento delle piccole anguille fino a cm. 17,5 è $a = 0,00094$; mentre il coefficiente delle anguille di dimensioni maggiori è $a = 0,00135$.

La differenza tra i due coefficienti è molto forte, dello stesso ordine di grandezza di quella che negli altri Pesci studiati esiste tra specie e specie. Non può perciò trattarsi di eventuali variazioni che potrebbero esistere tra razze locali diverse. Il fatto è secondo me una riprova delle cattive condizioni energetiche delle anguille di montata, condizioni che si prolungano anche nel primo periodo di vita sedentaria; raggiunta dall'anguilla una determinata dimensione e stabilitosi l'acclimatamento alle condizioni ambientali, l'accrescimento in peso segue un andamento diverso e da ciò deriva la diversità tra i due coefficienti.

All'elenco pubblicato dal SASAKI possiamo ora aggiungere:

Anguilla vulgaris { 0,094 / 0,135 } RODOLICO (1932).

II.

RICERCHE DI BOTANICA

EMBRIOLOGIA

DEL « BUPHTHALMUM SALICIFOLIUM » L.

(ASTERACEAE).

Della tribù delle Inuleae nella famiglia delle Asteraceae fu studiata l'embriologia di specie appartenenti ai generi: *Antennaria, Gnaphalium, Helichrysum, Adenocaulon.* Le mie ricerche riguardano il *Buphthalmum salicifolium* L. e sono state eseguite nell'Istituto di Botanica della R. Università di Firenze, diretto dal prof. GIOVANNI NEGRI, a cui rivolgo i miei più vivi ringraziamenti.

La pianta è stata raccolta dal prof. ALBERTO CHIARUGI in Vallelunga (1620 m.) di Val Gardena (Alto Adige) nel luglio del 1924, fissata in liquido di Juel, e da Lui gentilmente messa a mia disposizione. Per lo studio dello sviluppo del gametofito femmineo e della formazione del periplasmodio ho eseguito colorazioni con ematossilina Delafield e safranina; per la ricerca del numero dei cromosomi colorazioni con ematossilina ferrica.

LO SVILUPPO DEL GAMETOFITO FEMMINEO.

Nelle sezioni di giovani ovari si può notare il primordium meristematico dell'ovulo anatropo; questo, dapprima diritto, si incurva poi leggermente di lato; dalla parte concava allora, a circa metà altezza, si forma una nucella sindermale con archesporio unicellulare, che appare come un bottone quasi del tutto isolato (Tavola VIII, figg. 1, 2, 3, 4).

Successivamente, mentre già la cellula archesporiale è ingrossata, il *primordium* meristematico dell'ovulo ha una forma quasi ovoidale; quando il nucleo attraversa già i primi stadi della profase della mitosi eterotipica, il primordium continua la sua curva anatropa che ha per centro il punto di attacco della

nucella; questa viene ad essere racchiusa completamente dal tegumento solo all'epoca della tetradogenesi.

L'epitelio interno del tegumento si presenta allora nettamente delimitato con cellule turgide a funzioni trofiche come in generale nelle *Asteracee* (Goldfluss, 1898). La cellula archesporiale di forma piuttosto allungata è nettamente distinguibile anche per la sua grandezza dalle cellule della base della nucella, possiede un nucleo voluminoso munito di un grosso nucleolo (Tav. VIII, figg. 1, 2).

All'inizio della fase meiotica il citoplasma della cellula madre presenta una minuta vacuolizzazione; i vacuoli a volte confluiscono e se ne formano così dei più grossi (Tav. VIII, fig. 3), ma questi non sono mai orientati: si tratta quindi di fatti da riferirsi al periodo di accrescimento della cellula madre delle spore. Ho sorpreso più volte la cellula madre nello stato di sinapsi, con il filamento cromatico intricato addossato al nucleolo (Tav. VIII, fig. 4), e nello stadio di nucleo-leptotene. La sporogenesi procede normalmente, si ottengono le quattro megaspore disposte in fila (Tav. VIII, fig. 5).

Dopo la formazione delle macrospore o all'epoca del gamefito uninucleato o al massimo binucleato l'epitelio della nucella viene spezzato dalla pressione interna e le sue cellule ben presto degenerano (Tav. VIII, fig. 6).

Nella germogliazione delle spore è sempre l'inferiore che prevale, si nota però come la potenzialità germinativa sia ugualmente sviluppata in tutte le megaspore. Infatti oltre ai casi in cui le tre megaspore superiori degenerano ben presto senza presentare inizî di vacuolizzazione (Tav. VIII, fig. 8), ho trovato moltissimi esempi in cui tutte e quattro le megaspore avevano germinato, o presentavano le tre superiori una vacuolizzazione spiccatissima ma non ordinata e solo l'inferiore la forma di gametofito uninucleato (Tav. VIII, fig. 7). Talvolta le due superiori sono molto più sviluppate con vacuolizzazione sparsa, la seguente non è germinata e l'estrema inferiore possiede un solo vacuolo sopra il nucleo (Tav. VIII, fig. 6). In altri casi si erano sviluppati due gametofiti uninucleati dalle due megaspore estreme mentre le due intermedie erano precocemente degenerate, però il gametofito superiore più piccolo indicava che certamente sarebbe prevalso l'inferiore (Tav. VIII, fig. 9). Conclu-

dendo nella lotta per lo sviluppo la megaspora basale si dimostra la più potente, viene poi la megaspora micropilare che può dar origine anche a un gametofito uninucleato, infine le più deboli sono le intermedie che possono al massimo presentare una vacuolizzazione disordinata. Il gametofito uninucleato definitivo deve essere costantemente derivato dalla megaspora basale avendolo trovato sempre sormontato dalla caratteristica semiluna formata dai resti delle megaspore superiori ormai schiacciate (Tav. VIII, fig. 10). Dei due vacuoli del gametofito uninucleato l'inferiore si sviluppa dopo, ed è per lungo tempo più piccolo del superiore (Tav. VIII, fig. 8), segue la divisione del nucleo e la polarizzazione del gametofito binucleato che, come comunemente nelle Asteraceae, possiede, oltre al grosso vacuolo fra i due nuclei, un secondo vacuolo più piccolo fra il nucleo e l'estremità calazale (Tav. VIII, fig. 11).

Il gametofito tetranucleato è già allungatissimo, presenta i nuclei disposti longitudinalmente; a volte vi è un solo grande vacuolo fra le due coppie di nuclei, ma a volte in stadi più avanzati esiste un secondo vacuolo fra la coppia dei nuclei calazali. Ugual comportamento è stato trovato nel *Cosmos* e *Cosmidium* dal TÄCKHOLM (Tav. VIII, figg. 12-13). Ho trovato anche dei gametofiti tetranucleati che nella estremità calazale si mostravano slargati e i due nuclei calazali erano posti uno accanto all'altro in posizione trasversa all'asse del gametofito.

Dal gametofito ottonucleato le prime cellule a differenziarsi sono le sinergidi e l'oosfera, più tardi si separa la parte basale del gametofito con i 3 nuclei antipodali. Il gametofito in questo stadio mantiene la forma identica e anche quasi la grandezza di un gametofito tetranucleato. Le due sinergidi, allungate e avvicinate, si trovano ancora entro il gametofito, hanno un citoplasma omogeneo, e sono munite a circa la metà della loro lunghezza di un piccolo nucleo con nucleolo ben sviluppato (Tav. VIII, fig. 14).

Comincia a questo punto un'intensa crescita del gametofito specialmente in direzione trasversale. I nuclei polari sono migrati l'uno verso l'altro e si sono fusi a circa metà della cellula proendospermatica e quindi il nucleo secondario, a contorni quasi ameboidali e con un enorme nucleolo che presenta nell'interno uno o due vacuoli meno rifrangenti, si porta vicino

all'oosfera (Tav. VIII, fig. 27). Questa ha assunto una forma piriforme con un peduncolo ben sviluppato, un grosso nucleo e il vacuolo superiormente al nucleo (Tav. IX, fig. 28 bis), il che è indice di una perfetta polarizzazione.

LE SINERGIDI.

Durante l'accrescimento del gametofito ottonucleato le due sinergidi hanno con la loro punta cominciato a sporgere dalla cellula proendospermatica e ad accennare quindi a una leggera indentatura, rimanendo il nucleo sempre nella parte basale (Tav. IX, fig. 27).

A poco a poco l'indentatura diviene sempre più pronunziata; la sinergide di un gametofito pronto alla fecondazione si mostra composta di una parte superiore triangolare esterna fortemente colorata, di un esilissimo filamento che partendo dalla parte triangolare suddetta penetra nella cellula proendospermatica e si allarga a poco a poco terminando come in forma di una grossa goccia: è questa la parte basale interna della sinergide in cui trovasi il nucleo (Tav. IX, fig. 28).

Si conoscono ormai moltissime piante, specialmente Asteraceae che presentano il fenomeno dell'indentazione delle sinergidi: fu osservato pronunciatissimo nell'*Helianthus* (NAWASCHIN, 1909), *Artemisia* (CHIARUGI, 1926), *Achillea clavenae* (CHIARUGI, 1927), *Chrysanthemum alpinum* (CHIARUGI, 1927), *Adenostyles* (LANGLET, 1925). (Cfr. DAHLGREN, 1928). In alcuni preparati che ho fatto di *Cupularia graveolens* e di *Inula viscosa* ho pur notato sinergidi indentate fortemente, somiglianti a quelle del *Buphthalmum salicifolium*.

La forma delle sinergidi nel *Duphtalmum salicifolium* mi sembra sia da collocare come gradino di passaggio fra l'indentazione semplice delle sinergidi e il caso presentato da quelle di *Bellidiastrum Michelii* in cui la parte apicale a funzione ghiandolare è completamente staccata dalla parte basale. I passaggi fra queste due forme sarebbero i seguenti:

1) Sinergidi indentate con istmo di riunione fra le due parti terminale e basale molto corto, caso che si verifica nella maggioranza.

2) Sinergidi indentate con istmo di riunione fra le due parti terminale e basale lunghissimo filamentoso, sì che la parte terminale sembra quasi staccata e ben lontana dalla parte basale immersa nella cellula proendospermatica : *Buphthalmum salicifolium*.

3) Sinergidi in cui la parte terminale può essere o no staccata dalla basale : *Anthemis alpina* (CHIARUGI, 1927).

4) Sinergidi tipo *Bellidiastrum* (CHIARUGI, 1927) con parte terminale ghiandolare completamente staccata dalla base.

Nel *Buphthalmum salicifolium* come pure in molti dei casi studiati è probabile che la parte terminale della sinergide di natura essenzialmente ghiandolare produca la sostanza chimiotactica per il tubetto pollinico. Questa produzione più che un fenomeno di secrezione è da attribuirsi nel *Buphthalmum salicifolium* a una trasformazione olocrina del citoplasma. Infatti i gametofiti maturi pronti a ricevere il tubetto pollinico hanno sinergidi le cui parti terminali sono completamente alterate, il loro plasma si colora completamente in rosso intenso con la safranina dando l'idea che si trasformi disintegrandosi completamente.

Nel caso del *Buphthalmum salicifolium* il tubetto pollinico, mentre scorre vicino alla parte terminale della sinergide e al filamento di riunione, non prende con essi alcun rapporto ; si fonde invece con la sinergide solo quando ha raggiunto la parte basale (Tavola IX, fig. 29). In questo caso vi sarebbe nella sinergide una divisione in due parti anche dal punto di vista fisiologico :

1) Parte terminale destinata solo alla produzione di sostanze chemiotactiche.

2) Parte basale destinata a fondersi con il tubetto e a nutrirlo con il proprio plasma.

Da quelle sinergidi nelle quali a tutta la cellula competono queste due funzioni fisiologiche si passerebbe per gradi a un differenziamento di parti a cui competerebbero rispettivamente una delle due funzioni. Il caso del *Buphthalmum salicifolium* sarebbe uno dei casi estremi di questa divisione di lavoro.

LE ANTIPODI.

Come in molte altre Asteraceae vi è nelle Inuleae una spinta tendenza verso la formazione di complessi sistemi antipodali.

JUEL nella *Antennaria dioica* e *alpina* (1898-1900) notava la formazione di un tessuto antipodale ottenuto per ripetute divisioni delle primitive antipodi; ugualmente SCHILLER (1907) per il *Gnaphalium supinum*, per il *Ghaphalium silvaticum*, per il *Gnaphalium uliginosum*, e DAHLGREN (1920) per il *Gnaphalium undulatum*. L'*Helichrysum angustifolium* possiede pure molte antipodi (DAHLGREN, 1920); l'*Inula Helenium* (GOLDFLUSS, 1898) presenta 6 o più cellule antipodali.

Il *Buphthalmum salicifolium* presenta invece anche in epoche avanzatissime due sole cellule antipodali. Asteraceae che si comportino ugualmente sono: *Arnica montana* (AFZELIUS, 1925), *Bidens leucanthus* (HEGELMAIER, 1889 e DAHLGREN, 1920), *Helianthus annuus* (TÄCKHOLM, 1916), *Bidens tripartitus* (DAHLGREN, 1920), *Cosmidium Burridgeanum* e *Cosmos bipinnatus* (TÄCKHOLM, 1916), *Erigeron annuus* (HOLMGREN, 1919), *Erigeron glabellus* (CARANO, 1921), *Eupatorium ageratoides, Eupatorium cannabinum, Eupatorium ianthinum, Eupatorium Purpusi* (HOLMGREN, 1919), *Chrysanthemum alpinum* (CHIARUGI, 1927).

Nello sviluppo del gametofito ottonucleato del *Buphthalmum salicifolium* la parte basale del gametofito si separa sotto forma di una grossa cellula trinucleata (Tav. VIII, fig. 14); quasi contemporaneamente questa cellula antipodale si divide dando origine a due cellule: la superiore voluminosa con due nuclei, l'inferiore più piccola con uno (Tav. VIII, fig. 15). Se si osserva la superficie di distacco della primitiva cellula trinucleata dal gametofito, o meglio quella delle cellule antipodali da essa originatesi si nota che una cellula si presenta incavata e l'altra sporgente, perchè il distacco non avviene secondo un piano perpendicolare all'asse del gametofito ma secondo la superficie di un cono (Tav. VIII, fig. 16). Le due cellule antipodali si distaccano notevolmente dal gametofito e fra loro, la prima aumenta di volume mentre la seconda si allunga; il protoplasma rimane denso poco o punto vacuolizzato, le due cellule persistono vigo-

rose anche quando l'embrione è già sviluppato e l'intera cellula proendospermatica è occupata dall'albume.

Le due cellule antipodali sembra non siano in un primo tempo rivestite da membrana cellulosica; questa appare più tardi, si mantiene sempre esile e aderente al plasma, appena accennata dalla colorazione che prende con l'ematossilina. Ugual comportamento vi è in molte *Ranuncolaceae, Berberidaceae, Papaveraceae* (Huss, 1906), in cui le antipodi sono dapprima nude e solo verso l'epoca della penetrazione del tubetto pollinico si forma una sottile membrana cellulosica. Il Lötscher (1905) crede che le membrane delle antipodi siano in generale formate da sostanza proteica impregnata da cellulosa; lo Schnarf ritiene che in quasi tutte le antipodi in un primo tempo vi sia una pellicola e che più tardi siano rivestite da una membrana di cellulosa.

Interessante è il comportamento dei nuclei delle antipodi del *Buphthalmum salicifolium*; si ha infatti la formazione di parecchi nuclei per ciascuna cellula. Nelle Asteraceae sono frequenti gli esempi di un'attiva divisione di nuclei in antipodi sia di tipo bicellulare che tricellulare: ad esempio in *Cosmos* e in *Cosmidium*, e di fusioni quindi di questi nuclei in sincarion polivalenti: *Arnica montana* (Afzelius, 1924), *Chrysanthemum alpinum* (Chiarugi, 1927) e in moltissime specie del genere *Senecio* (Afzelius, 1924, pag. 161).

Nel *Buphthalmum salicifolium* già quando nel gametofito ottonucleato giovane si accenna appena la separazione della prima cellula antipodale a tre nuclei, questi non si presentano perfettamente normali; il nucleolo non è più nettamente delimitato e sferico, ma sembra dissolversi nell'interno del nucleo che assume con la safranina una colorazione rosea diffusa. Questi indizi di involuzione ben presto si accentuano: il nucleo scompare del tutto, il nucleo aumenta di volume e assume un colore rosso intenso mentre la cromatina o si trasforma in grosse placche, o si dissolve in un ammasso pulverulento o assume l'aspetto di un intricatissimo assieme di filamenti e di granellini. Subite queste trasformazioni il nucleo assume una forma lobata e quindi si divide (Tav. VIII, fig. 15). Questi fenomeni nucleari possono avvenire prestissimo, o viceversa più raramente qualche nucleo può mantenere una forma meno al-

terata conservando più lungamente il nucleolo (Tav. VIII, fig. 17).

Il numero delle divisioni nucleari che avvengono nelle due cellule antipodali è variabilissimo sia per numero che per ripartizione. Il tipo fondamentale da cui si parte è il seguente: due cellule, la superiore con due nuclei, l'inferiore con uno (sup. n. 2, inf. n. 1) (Tav. VIII, fig. 15). Il nucleo della cellula antipodale inferiore tende a dividersi dando origine alla forma (sup. n. 2, inf. n. 2) che è la più comune e che può conservarsi inalterata anche all'epoca di sviluppo dell'embrione (Tav. IX, fig. 27; Tav. VIII, figg. 16-17).

Dal tipo fondamentale per divisione invece di un nucleo della cellula superiore si ha la forma (sup. n. 3, inf. n. 1) (Tav. VIII, fig. 19), da questa successivamente (sup. n. 4, inf. n. 1) (Tav. VIII, fig. 21), (sup. n. 3, inf. n. 2) (Tav. XIII, fig. 20), e infine (sup. n. 4, inf. n. 2).

Dalla forma (sup. n. 2, inf. n. 2) derivano pure le (sup. n. 3, inf. n. 2) (Tav. VIII, fig. 20), (sup. n. 2, inf. n. 3) (Tav. VIII, fig. 18). (Cfr. schema fig. 5).

In epoca avanzatissima con embrione già molto sviluppato si nota a volte nell'antipode superiore un solo grosso nucleo che è quindi certamente un sicarion di fusione (Tav. VIII, fig. 23).

Col seguente schema (fig. 5) non ho voluto rappresentare le linee di sviluppo per le quali deve rigorosamente passare il sistema antipodale nel suo formarsi, ma semplicemente far vedere come si esplichino i casi possibili di combinazioni, partendo da una forma fondamentale; in queste divisioni vige quindi uno schema di pura probabilità.

L'involuzione avvenuta prestissimo dei nuclei antipodali e la differente grandezza dei prodotti delle divisioni fanno escludere *a priori* la possibilità di una mitosi ordinaria. Solo nel caso di cui alla Tav. VIII, fig. 17 in cui i due nuclei dell'antipode inferiore sono rimasti normali è quasi certo che la loro derivazione dal primitivo nucleo della cellula inferiore è avvenuta normalmente per mitosi. Negli altri casi rimane da prendere in considerazione o la amitosi e la frammentazione, oppure la mitosi abnorme.

Il Carano nella *Bellis perennis* (1915) descrive delle tipiche amitosi.

Lavori recenti convalidano l'esistenza dell'amitosi nelle antipodi: nelle *Gentianaceae* (JACOBSSON-PALEY, 1920) e nelle *Graminaceae* (SHADOWSKY, 1926), sia pur potendoci essere anche mitosi ordinarie.

L'AFZELIUS a proposito delle divisioni nucleari delle antipodi delle *Senecioneae* nota che in molte specie avvengono mitosi

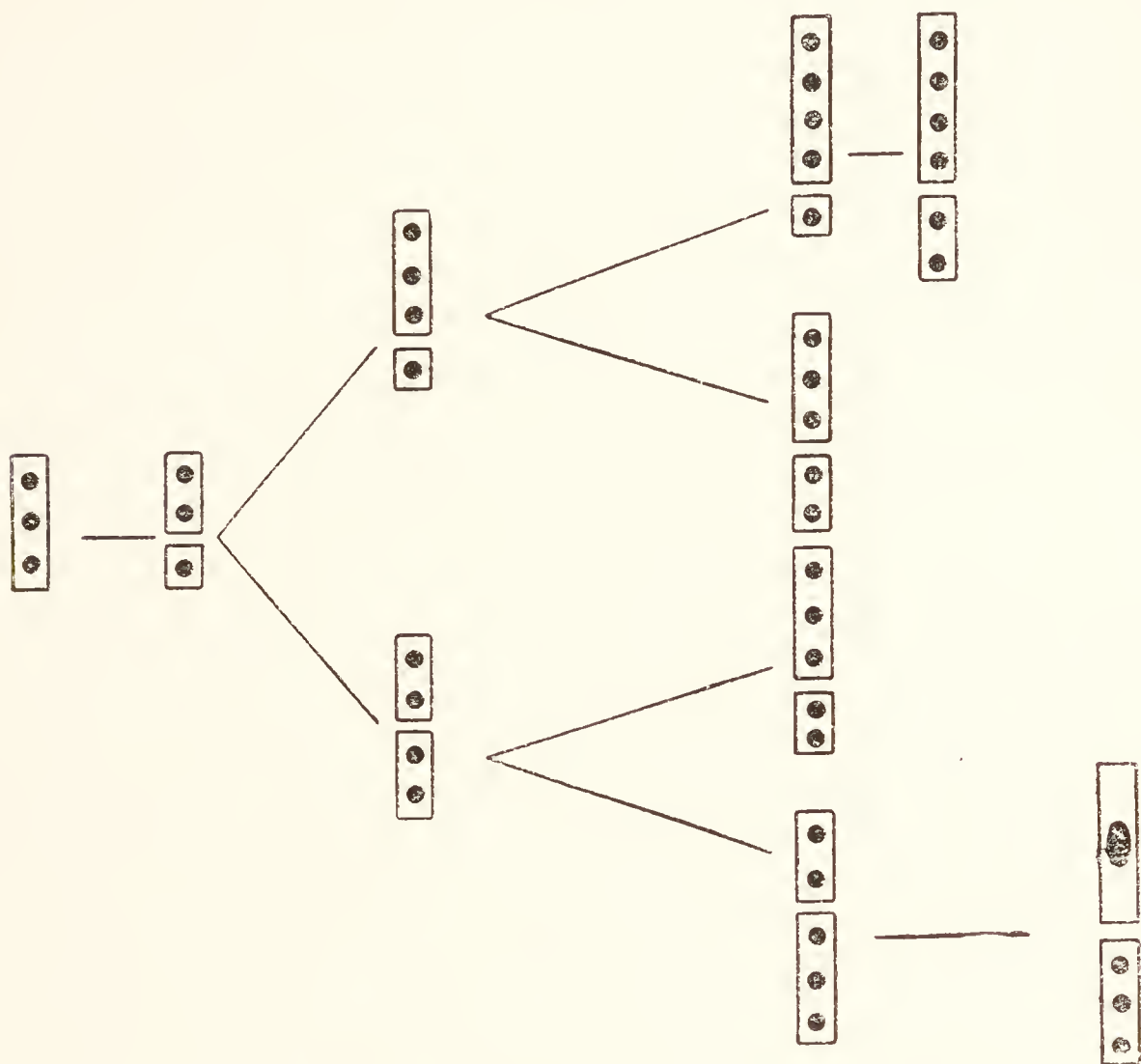



Fig. 5.

normali e solo tardivamente «oder wenn die Antipoden in irgend einer Weise früh degeneriren» le mitosi diventano abnormi ma non vi sono amitosi. L'AFZELIUS stesso fa notare come alcuni casi che potrebbero riferirsi a frammentazioni siano da ascriversi a mitosi abnormi avendo per esempio in *Gynura aurantiaca* trovato piastre poliploidi caratteristiche delle mitosi degenerate (1924, p. 149, fig. 15 *e*).

Per quanto abbia insistito nelle ricerche non ho mai trovato nel *Buphthalmum salicifolium* nuclei in movimento cariocinetico sia pure abnorme; frequentemente ho invece notato, oltre a nuclei fortemente lobati, anche forme di nucleo a biscotto con istmo di riunione più o meno strozzato.

Avevo dapprima scartato l'ipotesi che si trattasse di forme amitotiche per il fatto che i due nuclei si presentano molto vicini, l'istmo di riunione corto e non così stirato come è caratteristico delle vere amitosi (Tav. VIII, figg. 15, 17, 20); attribuiva quindi queste formazioni a vari gradi di fusione di nuclei.

Sulle fusioni nucleari l'AFZELIUS così si esprime: «In den alteren Stadien scheinen die meisten Arten grösstenteils einkernige Antipoden zu besitzen, obschon sie in den jungen Antipoden meistens zwei bis mehrere Kerne führen. Diese Einkernigkeit entsteht dadurch dass die Kerne bei eintretender Degeneration zu grossen Sammelkernen verschmelzen»; e quindi a proposito se i nuclei giganteschi di stadî avanzati siano semplici prodotti di ipertrofia o siano derivati da fusioni, nuovamente insiste: «die Tatsache, dass die jungen Antipoden meistens mehrkernig, die alten dagegen gewönlich einkernig sind, spricht ja sehr zugunsten der Ansicht dass sie wenigtens Verchmelzungkerne sein können».

Ma nel *Buphthalmum salicifolium* mancano proprio gli stadî più giovani a nuclei polari appena fusi, quelli che presentano quelle formazioni che potrebbero essere interpretate come fusioni, mentre in generale sono i gametofiti già fecondati quelli che nelle loro antipodi presentano il maggior numero di nuclei. Solo quando l'embrione è già sviluppato si trovano nelle antipodi nuclei unici ipercromatici che sono certamente derivati da fusioni (Tav. VIII, fig. 23). Per il caso dei nuclei a biscotto delle giovani antipodi credo sia più verosimile ammettere che si tratti di figure amitotiche. Per mezzo di queste divisioni si formerebbero le antipodi con molti nuclei e quindi in ultimo si formerebbe il sincarion.

La mitosi ordinaria, l'abnorme e la amitosi o la frammentazione nella moltiplicazione dei nuclei antipodali sono i diversi metodi secondo i quali si esplica quella generale innata attività divisionale dei nuclei antipodali delle Asteraceae secondo il grado di degenerazione trofica del nucleo stesso.

Da qualche sezione di *Cupularia graveolens* e di *Inula viscosa* ho notato come nella prima vi siano tre cellule antipodali e nella seconda pianta viga il tipo bicellulare.

Pur non potendosi parlare per il *Buphthalmum salicifolium* di vere «antipodi austorium» pur tuttavia per sviluppo e durata

sono da riportare alle analoghe formazioni di molte altre Asteraceae e anche Ranunculaceae e Papaveraceae, in cui è innegabile che esse abbiano assunto una funzione trofo-fisiologica.

Lo SCHNARF (1927) riassumendo le idee dei vari autori sulla funzione di queste antipodi nota come sia insostenibile l'ipotesi di HUSS che considera queste come semplici cellule ipertrofizzate da una forte quantità di nutrimento, e come sempre più venga convalidata l'opinione di una vera funzione fisiologica delle antipodi nel passaggio del nutrimento fra lo sprorofito e il gametofito.

L'EMBRIONE E L'ALBUME.

Subita la fecondazione l'oosfera dà origine a un embrione secondo lo schema normale per le Asteraceae stabilito dal CARANO (1915).

La fig. 29 della tav. IX, rappresenta un embrione con il segmento terminale quadricellulare (2 cellule sole sono visibili nella sezione della figura), il segmento intermedio bicellulare e il segmento basale formato dalla sola cellula sospensorio il cui grosso nucleo è ancora quiescente e sormontato da un grosso vacuolo. È molto frequente trovare embrioni in queste condizioni ed è già in tutti i casi sviluppatissimo l'albume cellulare. I nuclei dell'albume si presentano dapprima rotondeggianti con un sol grosso nucleolo, poi più o meno allungati con due o più nucleoli di varia forma.

Una sola volta ho trovato un embrione con otto cellule immerso nella cellula proendospermatica in cui non si vedeva traccia di albume. Il nucleo secondario ancora indiviso e un po' alterato si osservava addossato all'embrione. I resti del tubetto pollinico e la sinergide degenerata indicavano che la fecondazione della oosfera doveva essere avvenuta normalmente. Non ho trovato traccia del secondo spermio che mi permettesse di escludere la fecondazione del nucleo secondario e di riportare quindi questo caso ad uno analogo trovato dal CHIARUGI in *Melitella pusilla* (1927).

Proprio in un' Inulea, l'*Helichrysum angustifolium*, DAHLGREN (1920) ha trovato un'analoga anomalia pur non potendo spiegare anche in quel caso come essa si sia prodotta.

OSSERVAZIONI CARIOLOGICHE.

Alla metafase di una delle divisioni delle cellule dell'epitelio interno del tegumento ho potuto contare, sia pure in due sezioni successive, un numero di cromosomi diploide $2x = 20$.

I cromosomi si presentano allungati, bastonciniformi, leggermente incurvati e quasi tutti di ugual aspetto.

Nello sviluppo della cellula madre delle microspore ho poi notato in diverse diacinesi (Tav. VIII, fig. 24) e in un numero grandissimo di piastre un numero di gemini costantemente uguale a dieci : $x = 10$ (Tav. VIII, fig. 25 e Tav. IX, fig. 31). I gemini si presentano piccoli tozzi, di forma quasi sferoidale, a volte tutti uguali e a volte di differente grandezza.

La ricerca del numero dei cromosomi nelle Asteraceae ha dato notevoli risultati : a gruppi di specie ben delimitati corrispondono serie poliploidi che partono da un numero cardinale fisso ; per opera specialmente del WINGE (1917) si è stabilita per le *Anthemideae* la serie progressiva di cromosomi con numero cardinale 9 e per le *Heliantheae* una uguale serie a numero cardinale 8.

L'AFZELIUS per le *Senecioninae* completava una perfetta serie a numero cardinale 5 i cui termini superiori raggiungono i 90 cromosomi. La spiegazione data dal WINGE sulla formazione delle serie poliploidi per mezzo della teoria della ibridazione, e l'ipotesi precedente della *spermia* e dello sdoppiamento longitudinale dei cromosomi nello zigoto, ci permettono di farci un'idea del meccanismo del fenomeno.

Secondo lo SMALL, dato il fatto che i *Senecio* sono da considerarsi le capostipiti delle Asteraceae, la serie a numero cardinale 5 sarebbe la primitiva ; egli insiste sulla presenza nelle *Lactuca* che è un genere primitivo delle *Cichorieae* derivato dalle *Senecioneae*, di specie che hanno 5 per numero di cromosomi aploide, sia pur vicino a specie con numeri di cromosomi diversi specialmente 8 e 9. Conclude infine « This being so, the derivation of the various numbers from the primitive series may quite easily follow the derivation already suggested of the various tribes from the Senecioneae ». L'origine della serie 8 e 9 dalla serie di 5 sarebbe spiegata dallo SMALL seguendo il

WINGE per il passaggio di n — 1 cromosomi da un polo a n + 1 dall'altro come WINGE osservò in *Callitriche verna* (1910).

Anche in un altro genere delle *Cichorieae*, nella *Crepis*, di cui un gran numero di specie sono state ormai studiate mi sembra si ripeta il fenomeno osservato dallo SMALL in *Lactuca*: nella *Crepis* infatti accanto a molte specie a 5 cromosomi ve ne è un gran numero a 4 a 6 e ad altri diversi numeri.

Lo SMALL da uno studio accurato specialmente di morfologia delle *Inuleae* afferma per queste tribù una origine difiletica. Nelle *Inuleae* si avrebbero due linee filetiche principali: la prima si inizia con gli *Gnaphalium* originatisi dalle *Senecioneae* in epoca relativamente antica, la seconda linea si inizia con le *Inula* originatesi dalle *Senecioneae* in età più recente dando le *Buphthalmineae* e le *Inulineae*.

Ora del gruppo distaccatosi più anticamente dalle *Senecioneae*, cioè delle *Gnaphalineae*, si conoscono dati cariologici soltanto per il genere *Antennaria*, e, data l'incertezza sui numeri dei cromosomi delle specie di questo genere, non si può cercare di indagare su un'eventuale analogia cariologica fra queste specie e le *Senecioneae*.

La presenza invece nel *Buphthalmum salicifolium* di un numero di cromosomi aploide x = 10 convalida l'opinione di un distacco più recente delle *Buphthalmineae* dalle *Senecioneae* e quindi di una maggiore affinità al tronco originario. Il ramo laterale delle *Senecioneae* che ha dato l'*Inula* mi sembra abbia molta analogia con il ramo, distaccatosi precedentemente, dal genere *Lactuca* e come in quest'ultimo genere credo che nelle *Inulineae* e *Buphthalmineae* si debbano trovare numerose piante i cui numeri dei cromosomi coincidono con quelli delle serie delle *Senecio*.

Lo SMALL come pure l'JACOBSSON STIANSNY (1914) notano il valore generale filogenetico delle formazioni austoriali e come nelle Asteraceae l'austorio antipodale derivi presumibilmente da un'analoga struttura delle antenate *Lobelioideae*. Secondo lo SMALL gli apparati austoriali possono essere di due tipi: o derivati per allungamento delle cellule antipodali e divisione libera del nucleo, oppure per formazione da parte delle primitive antipodi per successive divisioni cellulari di un tessuto austoriale.

Egli nota che i pochi dati riferentisi ai sistemi antipodali

delle *Inuleae* tenderebbero anch'essi a far stabilire uno sviluppo difiletico per questa tribù mostrandosi le *Inulineae* vicine alle *Senecioneae* e tendenti alle *Centaureineae* attraverso le *Buphthalmineae*, e a proposito delle *Centaureineae* nota che: « the slight development of the haustorium is rather surprising considering the advanced position of the tribe, but is, nevertheless, quite in leeping with the sligh development of the haustorium in the ancestral *Buphthalmineae* ».

Le antipodi del *Buphthalmum salicifolium* sempre bicellulari e non mai esageratamente allungate sembrano seguire il tipo semplice previsto dallo SMALL per le *Buphthalmineae* in contrapposto dei complessi tessuti antipodali delle *Gnaphalineae*.

Le *Inulineae* che derivano dallo stesso ramo che le *Buphthalmineae* dovrebbero avere pure antipodi poco complesse: la presenza di antipodi semplici, da me osservate in *Inula viscosa* e *Cupularia graveolens,* comprova questa opinione.

PERIPLASMODIO E FORMAZIONE DELLE MICROSPORE.

Nelle giovani antere di *Buphthalmum salicifolium* in cui lo stato goniale non abbia ancora iniziato le mitosi riduzionali si nota addossato allo strato meccanico un piccolo strato transitorio in degenerazione e uno strato nutritivo ben sviluppato composto di cellule appiattite con un solo nucleo; da queste, mentre le cellule goniali assumono le prime figure della meiosi, si originano quasi sempre quattro nuclei. Seguono quindi fenomeni di coniugazione successiva formandosi o cellule con un grosso nucleo e due piccoli, o con due soli grossi nuclei e infine anche con un sol nucleo (Tav. IX, fig. 30); di nuovo si iniziano movimenti cariocinetici questa volta alterati: ho trovato esempi di divisioni con fuso diarcopolare orientato secondo l'asse minore della cellula e credo che i lunghi nuclei paralleli all'asse maggiore della cellula (Tav. IX, fig. 30) siano derivati con questo meccanismo; la cromatina assume poi un aspetto più minuto e i nucleoli si frammentano.

Ugual comportamento presentano i tappeti di alcune Asteraceae, specialmente il *Chrysanthemum alpinum* (CHIARUGI, 1927), l'*Anthemis alpina* (CHIARUGI, 1927) e l'*Helianthus tu-*

berosus (SCHNARF, 1922) tutte e tre possedenti un falso periplasmodio. Nel *Buphthalmum salicifolium* la degenerazione nucleare non si spinge al punto della formazione di nuclei serpentiniformi o ad anello come nella Asteraceae citate e quindi non credo che nel *Buphthalmum salicifolium* vi siano neanche in epoche avanzate fenomeni di frammentazione o amitosi, propri di quei nuclei straordinariamente modificati.

Quando dallo stato goniale è avvenuta la formazione delle microspore e queste a tetradi sono ravvolte dalla capsula gelatinosa, i citoplasmi delle cellule del tappeto sembrano lacerare e dissolvere le membrane, che rimangono come residui fortemente colorati dalla ematossilina per un tempo notevole prima di essere completamente disciolte, e penetrano quindi fra le microspore fondendosi fra loro mentre le capsule gelatinose si dissolvono (Tav. IX, fig. 32).

Il periplasmodio ha allora un aspetto translucido e scorrevole ed è privo di nuclei; questi infatti permangono dentro le membrane cellulari e solo più tardi fuoriescono e si addentrano nel plasma (Tav. IX, fig. 33).

I nuclei in questa epoca sono piccoli, di frequente sferici, ma anche allungati e di forme varie, prendono fortemente la safranina e benchè persistano lungamente sono da considerarsi nuclei in rovina: il *Buphthalmum salicifolium* ha quindi un falso periplasmodio.

A volte l'uscita dei plasmi si ritarda e nel frattempo le microspore sono ravvolte dalle sostanze di dissolvimento delle capsule, sostanze talmente abbondanti da simulare un periplasmodio. Questo si vede bene in preparati con ematossilina ferrica e una leggerissima colorazione con safranina: quest'ultima è assorbita dalle sostanze capsulari che si colorano quindi in rosa mentre il plasma del periplasmodio rimane grigio-giallastro; la sostanza capsulare viene poi riassorbita e sostituita dal periplasmodio.

Quando il polline è maturo e pronto ad uscire il periplasmodio è ridotto a un ammasso polverulento e qualche nucleo risecchito e contratto è aderente alle spine del polline.

La tetradogenesi avviene per quadripartizione simultanea e strozzamento cioè secondo il tipo *Chrysanthemum* comune in molte Asteraceae.

Dopo la formazione della diade i fusi della seconda divisione possono presentare un diverso orientamento: possono giacere ambedue in uno stesso piano ed essere fra loro paralleli ed allora i quattro nuclei microsporiali si troveranno disposti ai vertici di un rombo; oppure i due fusi sono posti su due rette fra loro inclinate. L'angolo formato dai due piani passanti per le due rette può assumere diversi valori, nel caso limite in cui i due fusi siano orientati in piani ortogonali fra loro i nuclei microsporali saranno orientati secondo i vertici di un tetraedro.

In tutti i casi le fibrille del fuso si riassorbono e la membrana viene formata secondo il processo di strozzamento (Tavola VIII, fig. 26).

Nella *Cupularia graveolens* ho trovato la formazione di un periplasmodio che va forse anch'esso attribuito ai « falsi periplasmodi ».

CONCLUSIONI.

1) Il numero diploide dei cromosomi del *Buphthalmum salicifolium* è $2x=20$; l'aploide $x=10$. Questo ravvicina il *Buphthalmum salicifolium* alla serie diploide a numero cardinale 5 stabilita dall'AFZELIUS nel genere *Senecio*.

2) Nucella sindermale ad archesporio unicellulare. Sviluppo del gametofito femmineo secondo il tipo « *normale* » monosporiale ottonucleato.

3) Sinergidi indentate ciascuna composta di tre parti:

a) parte terminale ghiandolare a funzione chemiotattica;
b) filamento di riunione;
c) parte basale destinata a fondersi con il tubetto pollinico.

4) Sistema antipodale di tipo sempre bicellulare. Negli stadî giovani del gametofito ottonucleato l'antipode superiore possiede 2 nuclei, e l'inferiore uno; seguono poi nelle due cellule divisioni nucleari varie sia per numero che per sede, in modo che si possono costituire tipi svariati di antipodi (Tav. VIII, fig. 1). In stadî con embrione già sviluppato si può formare un sicarion per fusione dei nuclei della cellula antipodale superiore.

5) I nuclei antipodali subiscono prestissimo fenomeni di involuzione. Quando i nuclei sono meno alterati sarà possibile anche la divisione per ordinaria cariocinesi, ma nella maggioranza dei casi la divisione avviene per amitosi, o anche per frammentazione.

6) Vi è la formazione di un *falso periplasmodio*. La tetradogenesi avviene per quadripartizione simultanea e strozzamento « *tipo Chrysanthemum* ».

BIBLIOGRAFIA.

AFZELIUS K. *Embryologische und zytologische Studien in Senecio und verwandten Gattungen.* « Acta Horti Bergiani », Bd. 8, N. 7, Uppsala, 1924.

CARANO E. *Ricerche sull'embriogenesi delle Asteracee.* « Annali di Botanica », vol. XIII, Roma, 1915.

— *Nuove ricerche sulla embriolo giadelle Asteracee.* « Ibid. », vol. XV, 1921.

CHIARUGI A. *Aposporia e Apogamia in ' Artemisia nitida ' Bertol.* « Nuovo Giornale Botanico Italiano », Nuova Serie, vol. 33, Firenze, 1926.

— a) *Ricerche sulla embriologia delle ' Asteraceae '.* « Ibid. », vol. 34, 1927.

— b) *L'evoluzione delle cellule del tappeto e la formazione del periplasmodio in alcune ' Asteraceae '.* « Ibid. », vol 34, 1927.

DAHLGREN K. V. O. *Zur Embryologie der Kompositen mit besonderer Berücksichtigung der Endospermbildung.* « Zeitschrift fur Botanik », Bd. 12, Yena, 120.

— *Hakenförmige Leistenbildungen bei Synergiden.* « Berich. der Deutschen Botanischen Gesellschaft », Bd. XLVI, H. 7, pp. 434-443, Taf. XIII.

GOLDFLUSS M. *Sur la structure et les functions de l'assise epithéliale et des antipodes chez les Composèes.* « Journal de Botanique », vol. 12, vol. 13, 1899.

HEGELMAIER F. *Ueber den Keimsack einiger Kompositen und dessen Umhüllung.* « Botanische Zeitung », Bd. 47, 1889.

HOLMGREN. J. *Zytologische Studien über die Fortpflanzung bei den Gattungen Erigeron und Eupatorium.* « Kungl. Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar », Bd. 59, N. 7, Stockholm, 1919.

HUSS H. A. *Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Antipoden.* « Beih. bot. Centralbl. », 20, 1, 1906.

JACOBSSON PALAY R. *Étude sur la pollinisation e l'embryologie du Sweertia longifolia.* « Bull. Soc. Bot. Genève », 2, Ser. 12, 1920.

JACOBSSON STIASNY E. *Versuch einer phylogenetischen Verwertung der Endosperm und Haustorialbildung bei Angiospermem.* « Sitzungsber, Kaiserl. Akad. Wiss. Wien », Bd. 123, 1914.

JUEL H. C. *Vergleichende Untersuchungen über typiche und parthenogenetische Fortpflanzung bei den Gattung Antennaria.* « Kungl. Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar », Bd. 33, N. 5, Stockolm, 1900.

LANGLET O. F. Y. *On the embryology of Adenostyles.* « Svensk bot. Tidskr. », Bd. 19, 1925.

LÖTSCHER K. *Ueber den Bau und die Funktion der Antipoden in der Angiospermen Samenanlage.* « Flora », 94, pp. 213-262, 1905.

NAWASCHIN S. *Ueber das selbständige Bewegungsvernögen der Spermakerne bei einigen Angiospermen.* « Oesterreichische Botanische Zeitschrift », Bd. LIX, Wien, 1909.

SCHILLER J. *Untersuchungen über die Enbryogenie in der Gattung Gnaphalium.* « Oesterr. Bot. Zeitschr. », Bd. 57, 1907.

SMALL J. *The origin and development of the Compositae.* « New Phytologist Reprint », N. XI, London, 1919.

SCHNARF K. *Embryologie der Angiospermen.* « Getbrüder Borntraeger », Berlin, 1928.

SHADOWSKI C. *Der antipodiale Apparat bei Gramineen.* « Flora », 120, pp. 244-376, 1926.

TÄCKHOLM G. *Zur Antipodentwicklung der Kompositengattungen Cosmidium und Cosmos.* « Svensk Botanisk Tidskfit », Bd. 10, N. 3.

WINGE O. *The Chromosomes. Their Numbers and General Importance.* « Compt. Rend. Traveaux Laboratoir de Carlsberg », vol. 13, Copenhague, 1917.

APPUNTI SULLA CARIOLOGIA
E SULL'EMBRIOLOGIA DELLE « INULEAE ».

Pochi lavori di indole cariologico ed embriologico sono stati fatti sulle « Inuleae ».

Per il numero dei cromosomi si conoscono solo i seguenti dati :

Antennaria dioica. n=12-14 (JUEL 1898 e 1900).
Antennaria alpina. 2n=45-50 (JUEL 1898 e 1900).
Buphthalmum salicifolium. n=10 (RODOLICO 1930).

Lo sviluppo del gametofito femmineo è normale e molto simile nelle seguenti specie :

Antennaria dioica (JUEL 1898 e 1900).
Gnaphalium supinum (SCHILLER 1907).
Gnaphalium silvaticum (SCHILLER 1907).
Gnaphalium uliginosum (SCHILLER 1907).
Gnaphalium undulatum (DAHLGREEN 1920).
Helichrysum angustifolium (DAHLGREEN 1920).
Adenocaulon bicolor (AYRES 1915).
Buphthalmum salicifolium (RODOLICO 1930).

La maggioranza delle specie studiate hanno comportamento normale; solo alcune specie che appartengono esclusivamente al genere *Antennaria* sono apogame.

Nello sviluppo del gametofito femmineo delle Inuleae vi sono alcune caratteristiche proprie ; esse riguardano le sinergidi, i nuclei polari, le antipodi. Nel *Buphthalmum salicifolium* le sinergidi sono molto specializzate. Esse sono composte di tre parti distinte : una parte esterna a funzione ghiandolare, un filamento medio di riunione, una parte contenente il nucleo immersa nella cellula proendospermatica. Nelle altre Inuleae le

sinergidi non sono così specializzate, ma pur tuttavia si ricollegano in vario grado con questo tipo.

Quanto ai nuclei polari in alcuni casi si fondono presto, in altri indugiano, infine nell'*Antennaria alpina* non si fondono mai. In *Gnaphalium undulatum*, DAHLGREEN ha trovato che l'endosperma si forma secondo il tipo cellulare cioè alla prima divisione del nucleo secondario segue la formazione di un tramezzo cellulare.

Un comportamento caratteristico presentano le antipodi delle Inuleae. Esistono infatti alcune specie munite di antipodi normali formate da tre cellule uninucleate sovrapposte, altre specie con antipodi formate da tre cellule sovrapposte, la superiore binucleata e l'inferiore monocucleata, questi due primi tipi sono molto rari (*Inula viscosa*) ; più comune è il caso nel quale il sistema antipodale è formato di due cellule, ma i nuclei si sono divisi più volte (*Buphthalmum salicifolium*) ; caso estremo frequentissimo è che le cellule antipodali si siano divise molte volte dando, o numerose cellule antipodali (*Helychrysum angustifolium*), oppure addirittura un tessuto antipodale (*Antennaria dioica, A. alpina, Gnaphalium supinum, G. silvaticum, G. uliginosum, G. undulatum*).

Concludendo, le Inuleae tendono alla moltiplicazione delle antipodi del gametofito femmineo.

Riporto i risultati ottenuti nello studio di due altre Inuleae, studio che non ho ancora completamente finito. Queste due specie sono la *Pulicaria dysenterica* e la *Inula viscosa* ; il materiale della prima è stato fissato nei dintorni di Firenze nel settembre del 1930 ; la seconda a Ricorbico (Fiesole) nel settembre 1931.

Il *liquido di Karpetschenko,* ottimo fissaggio in moltissimi casi, è inadoprabile per quasi tutte le Inuleae ; esso non penetra quasi affatto e la sua reazione è completamente alterata dalla presenza, forse, di particolari sostanze aromatiche o dell'inulina. Al contrario di molte altre piante, il gametofito delle Inuleae è sensibilissimo, non si possono avere buoni risultati, che fissando direttamente i capolini senza tagliare o estrarre la pianta dalla terra.

Migliori risultati si hanno fissando in *liquido di Juel,* benchè per lo studio della forma dei cromosomi questo fissaggio lasci molto a desiderare.

Ho fissato il materiale in *liquido di Carnoy-Lebrun*[1] adoperato in citologia animale specialmente per lo studio delle cariocinesi maturative delle uova. I risultati ottenuti con questo procedimento sono stati ottimi. Ho potuto eseguire lo studio cariologico di *Inula viscosa* che avevo dovuto abbandonare adoperando altri fissaggi.

Ecco in breve i resultati ottenuti :

INULA VISCOSA AIT.

Embriologia. — 1) Nucella sindermale con archisporio unicellulare. Ho trovato spesso il nucleo delle cellule madri negli stadi di leptotene e di sinapsi.

2) Formazione delle tetraspore : la tendenza alla vacuolizzazione e quindi alla formazione del gametofito è molto netta anche nella megaspora superiore. Questo fatto si verifica anche nel *Buphthalmum salicifolium*, ma qui è molto più accentuato sì da far dubitare che sia sempre la megaspora inferiore a dar origine al gametofito.

3) Lo sviluppo del gametofito femmineo è molto probabilmente uguale a quello che ho descritto nel *Buphthalmum.*

4) Il gametofito adulto presenta una grossa oosfera munita, come di solito, di un grosso vacuolo e con plasma granuloso basofilo.

Le sinergidi sono laminari, sottilissime, poco indentate, ma possono apparire falsamente molto indentate per un ripiegamento della lamina. I nuclei delle sinergidi sono molto piccoli, di forma allungata. Nella porzione della sinergide esterna alla cellula proendospermatica non si nota una struttura granulosa come nel *Buphthalmum*. Le antipodi possono essere tre cellule uninucleate o due cellule, la superiore binucleata, e la inferiore uninucleata ; le antipodi presentano numerosi vacuoli : cosa che non si verifica nel *Buphthalmum.* I nuclei delle antipodi di

[1] *Alcool assoluto* 1 parte + *acido acetico* 1 parte + *cloroformio* 1 parte + *sublimato* in polvere a saturazione ; si fissa per circa un'ora e quindi si passa in alcool a 95° iodo-iodurato ecc.

Inula viscosa non si dividono e quindi il sistema antipodale di questa pianta è il più semplice delle Inuleae.

Cariologia. — Con il metodo tecnico adoperato ho potuto vedere con molta chiarezza diversi stadi dello sviluppo delle microspore.

Il filamento leptotenico ha proprietà poco basofile : fissando infatti con liquidi a base di sublimato, colorando con ematossilina ferrica ed estraendo a lungo il colore si può, dalla più o meno intensa colorazione, giudicare con sicurezza la natura acidofila e basofila della cromatina (LEVI). Il filamento leptotenico cede nella differenziazione fortemente il colore rimanendo appena grigiastro.

In numerose cellule in diacinesi ho contato con sicurezza assoluta nove gemini quasi di uguale forma e dimensioni.

In un gran numero di piastre della 1ª divisione maturativa ho di nuovo verificato il numero aploide $n = 9$.

La bellezza dei preparati è tale da poter contare (certo con minor sicurezza) i nove gemini in fusi visti di profilo. Ho pure di nuovo verificato il numero della 2ª divisione maturativa : i cromosomi sono in essa la metà in grandezza dei gemini, ma si mantengono ben distaccati e perciò individuabili.

Inclusi citoplasmatici. [1] — Un interessante fenomeno si verifica nelle cellule madri delle microspore e nelle cellule da esse derivate. In alcune antere il citoplasma presenta numerosissimi granuli intensamente colorabili con ematossilina ferrica (siderofili). I granuli sono tutti uguali ed hanno una forma perfettamente sferica con diametro di circa 1 μ. Durante le divisioni si mantengono diffusi nel citoplasma e si ripartiscono omogeneamente alle cellule figlie : li ho potuto seguire fino nelle microspore.

Che valore hanno queste formazioni ?

In un primo tempo li ho stimati mitocondri : la loro forma, le loro dimensioni, il loro comportamento durante le divisioni avvalorano questa ipotesi.

---

[1] Questo paragrafo l'Autore si proponeva ulteriormente di sviluppare ; qui è solo impostato il problema e sono formulate alcune ipotesi di soluzione. (*Nota del prof.* G. NEGRI).

D'altra parte si sa che i mitocondri delle piante dal punto di vista chimico si comportano in maniera identica a quelli degli animali, e cioè non sono conservabili che con particolari tecniche. Infatti le sostanze che fondamentalmente costituiscono i mitocondri sono di natura lipoidea e quindi solubili in alcool, se il materiale non sia stato preventivamente cromizzato, solubilissimi in cloroformio, decomponibili, infine, dall'acido acetico. Se si considera che il *Carnoy-Lebrun* contiene proprio le sostanze più adatte a distruggere o disciogliere i mitocondri, bisogna per forza escludere dalle formazioni mitocondriali gl'inclusi descritti se non si voglia sotto ugual nome intendere cose disparate.

Nelle cellule della linea germinativa esistono negli animali, inclusi fortemente colorabili con l'ematossilina ferrica, di forma a volte simile a mitocondri.

Tutti gli autori sono concordi a considerarli completamente diversi dai mitocondri appunto per le loro proprietà chimiche e di colorazione che sono identiche a quelle che ho descritto per gl'inclusi dell'*Inula viscosa*. Il nome dato a queste formazioni è di *granuli siderofili* (per ricordare l'intensa colorazione che prendono con l'ematossilina ferrica) oppure *granuli pirenoidi* per ricordare una presunta origine dal nucleolo (Champy).

I granuli da me trovati nell'*Inula* sono da omologare a queste formazioni che si trovano nelle cellule della linea germinale degli animali ? La cosa in sè potrebbe essere benissimo ammissibile, ma per decidere in proposito occorrono certamente ulteriori ricerche.

PULICARIA DYSENTERICA BERNH.

Non posso dare su questa specie che brevi notizie perchè il materiale fissato in Karpetschenko non si presta, come ho detto, in questo caso a ricerche cariologiche.

1. Nucella sindermale con archisporio unicellulare.
2. Formazione di quattro macrospore.
3. Sviluppo del gametofito femmineo molto probabilmente secondo il tipo normale.
4. Il numero aploide dei cromosomi è $n = 10$.

III.

RICERCHE DI FISIOLOGIA

EFFETTI NELLA RANA DI APPLICAZIONI CUTANEE DI ACIDI GRASSI E DI COLESTERINA.

Molti anni fa LAMBERTO DADDI [1] eseguì una serie di brillanti esperimenti sugli effetti delle verniciature nei mammiferi e nei rettili. Egli mise in luce l'esistenza di fattori nervosi riflessi la cui analisi non potè proseguire, ma che sono certo anche oggi di grande interesse.

Mi sono proposto di riprendere da varî punti di vista lo studio di questo problema. Gli esperimenti dei quali qui rendo conto, riguardano alcune ricerche preliminari nelle quali ho esaminato gli effetti di applicazioni sulla cute di acidi grassi (acido oleico e acido butirrico) ed ho ricercato se e come l'azione di detti acidi veniva modificata per aggiunta di colesterina o di lecitina. Ho ripreso anche in esame gli effetti delle pennellature con trioleina : altre prove comparative sono state eseguite con olio di vasellina. Ho sperimentato sulla *Rana esculenta* ; ma, tenendo presente il particolare valore della cute della rana rispetto al ricambio respiratorio, mi propongo di eseguire ricerche analoghe sui rettili e mammiferi.

Le rane scelte dello stesso peso e della stessa grandezza venivano pennellate sulla cute del dorso usando, per i varî individui, sensibilmente la stessa quantità di sostanza. Fra una pennellata e l'altra lasciavo decorrere un intervallo di 24 h. L'olio di vasellina e la trioleina, se applicati con le modalità seguite da me, non provocano effetti apprezzabili, come già è stato del resto rilevato da altri ricercatori.

---

[1] L. DADDI, *Nuovo contributo allo studio delle funzioni della pelle,* ne « Lo Sperimentale », XLVIII, 342, 1894.

Acido butirrico. — L'acido butirrico, se puro, provoca la morte degli animali già dopo la seconda pennellatura, ma se all'acido butirrico è aggiunto dell'olio di vasellina (ad un volume del primo 9 volumi di olio di vasellina) le pennellature ripetute provocano la morte dopo un tempo più lungo.

Così in un gruppo di 8 animali la morte è sopravvenuta fra il 9° ed il 19° giorno dall'inizio delle pennellature.

Acido oleico. — Gli animali in esperimento (dieci) sono morti in un intervallo di tempo che è andato dal 13° al 27° giorno dall'inizio delle pennellature. Tanto in questo caso quanto negli esperimenti eseguiti con acido butirrico, le rane erano state tenute ad una temperatura di circa 15°. Ho constatato che gli effetti delle pennellature appaiono però meno intensi in animali tenuti alla temperatura di circa 7°-8°, ciò è in accordo con quanto hanno osservato altri ricercatori in esperimenti analoghi eseguiti con olio di lino cotto (DADDI).

Una seconda serie di ricerche è stata diretta a verificare se l'aggiunta all'acido grasso di colesterina o di lecitina poteva rispettivamente accelerare o ritardare gli effetti dell'acido grasso stesso applicato sulla cute delle rane col procedimento usato nella prima serie di esperimenti.

Mentre l'acido butirrico (aggiunto ad olio di vasellina) ha provocato la morte delle rane pennellate (otto) in un intervallo che è andato dal 9° al 19° giorno, per l'aggiunta di colesterina alla miscela (1 %) gli animali (otto) in complesso vennero a morte dopo un periodo sensibilmente più lungo (dal 20° al 23° giorno dall'inizio delle pennellature).

L'aggiunta di colesterina ha ritardato anche gli effetti deleteri provocati dall'acido oleico puro. Infatti sedici rane trattate con acido oleico e colesterina (4 %) morirono nell'intervallo fra il 16° ed il 39° giorno, mentre le dieci rane di controllo pennellate col solo acido oleico morirono fra il 13° ed il 27° giorno.

La lecitina sembra avere un'azione del tutto opposta a quella della colesterina. Un gruppo di sedici rane pennellate con acido

oleico al quale era stata aggiunta lecitina (Merck) nella proporzione del 4 % morirono nell'intervallo fra l'11° e il 16° giorno dall'inizio del trattamento.

Mi propongo di studiare l'influenza di lecitina e colesterina, aggiunte all'acido, in proporzioni diverse da quelle usate negli esperimenti riferiti. Ho pure iniziato ricerche istologiche sulla cute delle rane pennellate, sopratutto in rapporto alla penetrazione di acidi grassi attraverso l'epidermide.

TAVOLA I

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA I.

Fig. 1. — Sezione trasversa di corpo genitale della regione centrale di una ceca lunga 7 cm. *e*, protogonio extragenitale. Ob. Kor. 1''/15, oc. c. 4.

Fig. 2. — Sezione trasversa di gonade della regione renale di una anguillina lunga 9,2 cm. Ob. Kor. 1''/15, oc. c. 4.

Fig. 3. — Protogonio di una ceca lunga cm. 6,5. Si noti la presenza dei corpi siderofili. Ob. Kor. 1''/15, oc. c. 12. Ingr. 3200×circa.

Fig. 4. — Cellule avvolgenti della cresta genitale di una ceca lunga cm. 6,5. Ingr. 3200 × circa.

Fig. 5. — Protogoni minimi di una ceca lunga cm. 7, in incipiente degenerazione. Ingr. 3200 × circa.

Figg. 6-7. — Protogoni con picnosi nucleare. Da un'anguilla lunga cm. 17. Ingrandimento 3200 × circa.

Fig. 8. — Archiovocita all'inizio della profase di divisione. Da un'anguilla lunga 18 cm. appartenente al Gruppo *B1*. Ingr. 3200 × circa.

Fig. 9. — Archiovocita in profase, in stadio di poco più avanzato. Le altre indicazioni come la figura precedente.

Fig. 10. — Archiovocita in profase con filamenti cromatici. Le altre indicazioni come la fig. 8.

Fig. 11. — Fuso e placca equatoriale di profilo in una divisione archiovocitica. Corpi siderofili nel citoplasma. Da un'anguilla lunga cm. 20 del Gruppo *B1*. Ingr. 3200 × circa.

Fig. 12. — Ovogonio in profase. Da un'anguilla lunga cm. 21,5 del Gruppo *B1*. Ingr. 3200 × circa.

Fig. 13. — Nucleo di altro ovogonio, in profase più avanzata. Le altre indicazioni come la fig. 8.

Fig. 14. — Divisioni ovogoniali. Le altre indicazioni come la fig. 8.

Fig. 15. — Ovociti inclusi in ovocita maggiore. Da un'anguilla lunga 28 cm. appartenente al gruppo *B1*. Ob. Kor. 1''/15, oc. c. 4.

Fig. 16. — Nucleo di ovocita in stasi. Le stesse indicazioni della fig. 8.

Figg. 17-18. — Nuclei di ovociti. Inizio del leptotene. Le stesse indicazioni della fig. 8.

Figg. 19-20. — Nuclei di ovociti in fase leptotene. Le stesse indicazioni della fig. 8.

Fig. 21. — Ovogoni in degenerazione. Le stesse indicazioni della fig. 8.

A. Rodolico, del.

TAVOLA II

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA II.

Fig. 22. — Ovociti in degenerazione allo stadio di leptotene. Da una anguilla lunga 18 cm., appartenente al Gruppo *B1*. Ingr. 3200 × circa.

Fig. 23. — Sinapsi in ovocita. Le stesse indicazioni della figura precedente.

Fig. 24. — Tardo pachitene nel nucleo di ovocita isolato di un'anguilla lunga 25 cm., femmina del tipo *B1*. Ingr. 3200 × circa.

Fig. 25. — Nucleo di ovocita isolato a citoplasma scuro. Passaggio diretto al diplotene (?), dalla stessa anguilla della figura precedente e lo stesso ingrandimento.

Figg. 26-27.— Nuclei di ovociti isolati a citoplasma scuro in diplotene. Dalla stessa anguilla della fig. 24. Lo stesso ingrandimento.

Figg. 28-31. — Varie fasi del nucleo di ovociti, successive al diplotene: fig. 28, da un ovocita di 18 μ di un'anguilla femmina di 36 cm.; fig. 29, da un ovocita di 30 μ di un'anguilla femmina di 41 cm.; fig. 30, da un ovocita di 55 μ di un'anguilla femmina lunga 51 cm.; fig. 31, da un ovocita di 75 μ di un'anguilla femmina lunga 94 cm. Ingr. 3200 × circa.

Figg. 32-33. — Nuclei di ovociti di *Muraena helena* L.: fig. 32, da un ovocita di 77 μ; fig. 33, da un ovocita di 110 μ. Ob. Kor. 1''/15, oc. c. 4.

A. Rodolico, del.

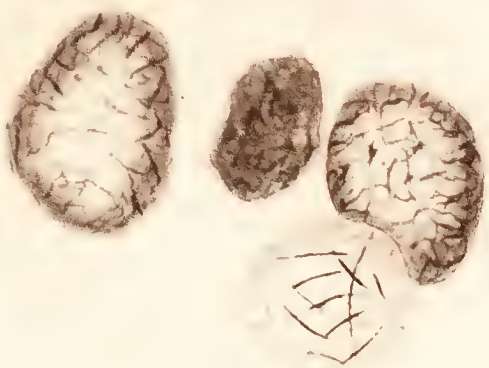
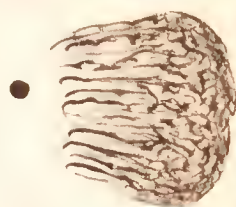
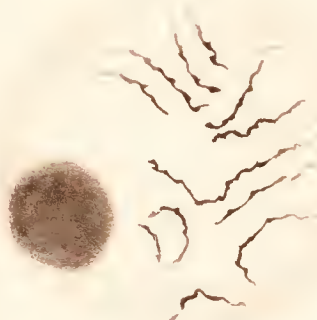
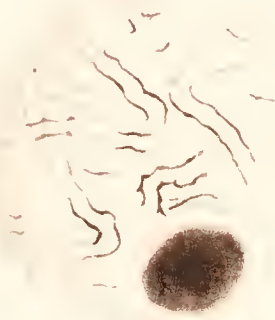
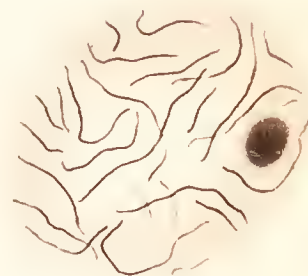
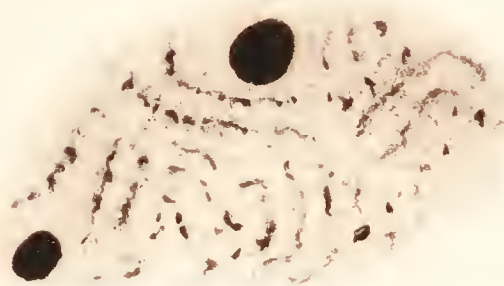
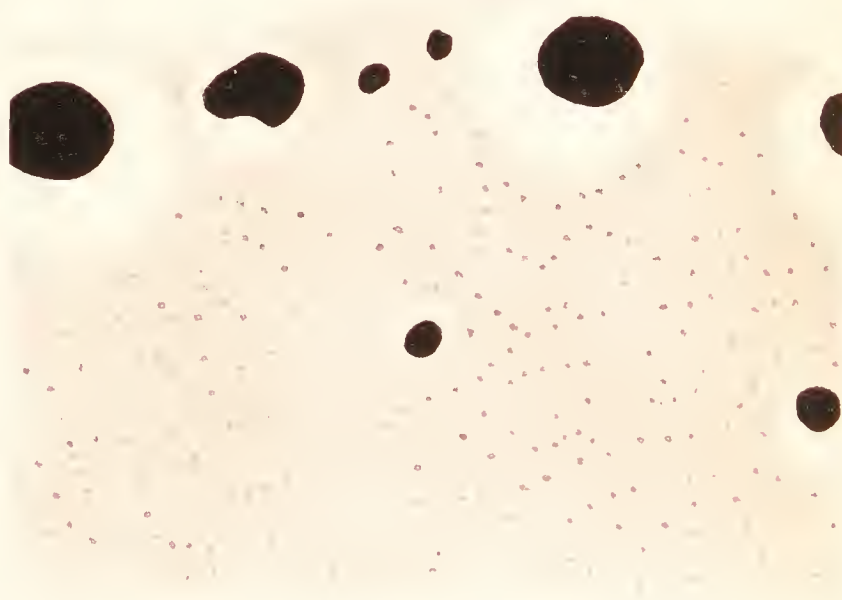
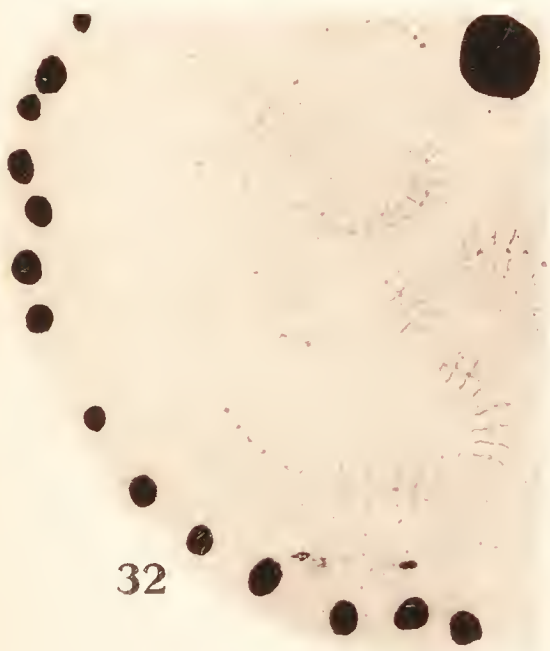
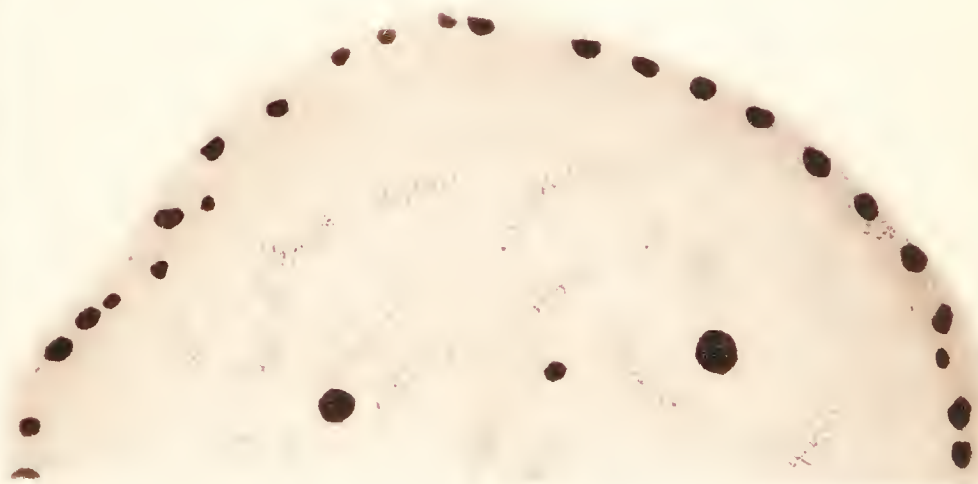



TAVOLA III

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA III.

Fig. 34. — Ovocita isolato a citoplasma scuro, con corpi siderofili nel loro stadio più avanzato. Da un'anguilla lunga cm. 20 del Gruppo *B1*. Ingr. 3200 × circa.

Figg. 35-37. — Ovociti isolati di 40-50 μ di diametro con inclusi filamentosi. Ingr. 680 × circa.

Fig. 38. — Ovocita che probabilmente proviene da trasformazione diretta di un archiovogonio. Da un'anguilla lunga 20 cm. Ingr. 3200 × circa.

Fig. 39. — Frammento di tubulo testicolare da un'anguilla argentina lunga 34 cm. di Castiglion della Pescaia. *a*, spermatogonio primario (con corpi siderofili); *b*, spermatogoni secondari; *c*, profasi spermatogoniali; al centro sferule di grasso. Ob. Kor. 1″/15, oc. c. 4.

Fig. 40. — Nido di spermatogoni secondari in incipiente profase. Le stesse indicazioni della figura precedente.

A. Rodolico, del.

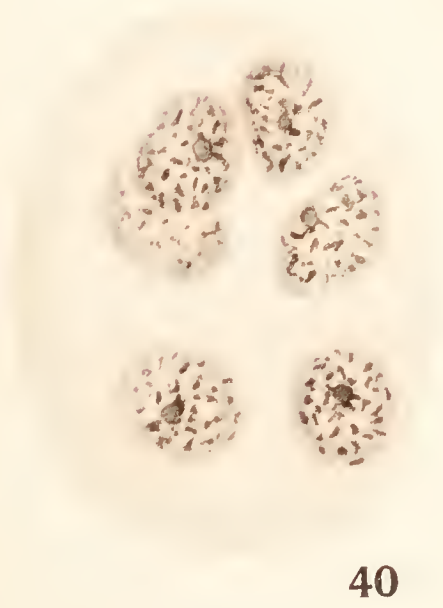
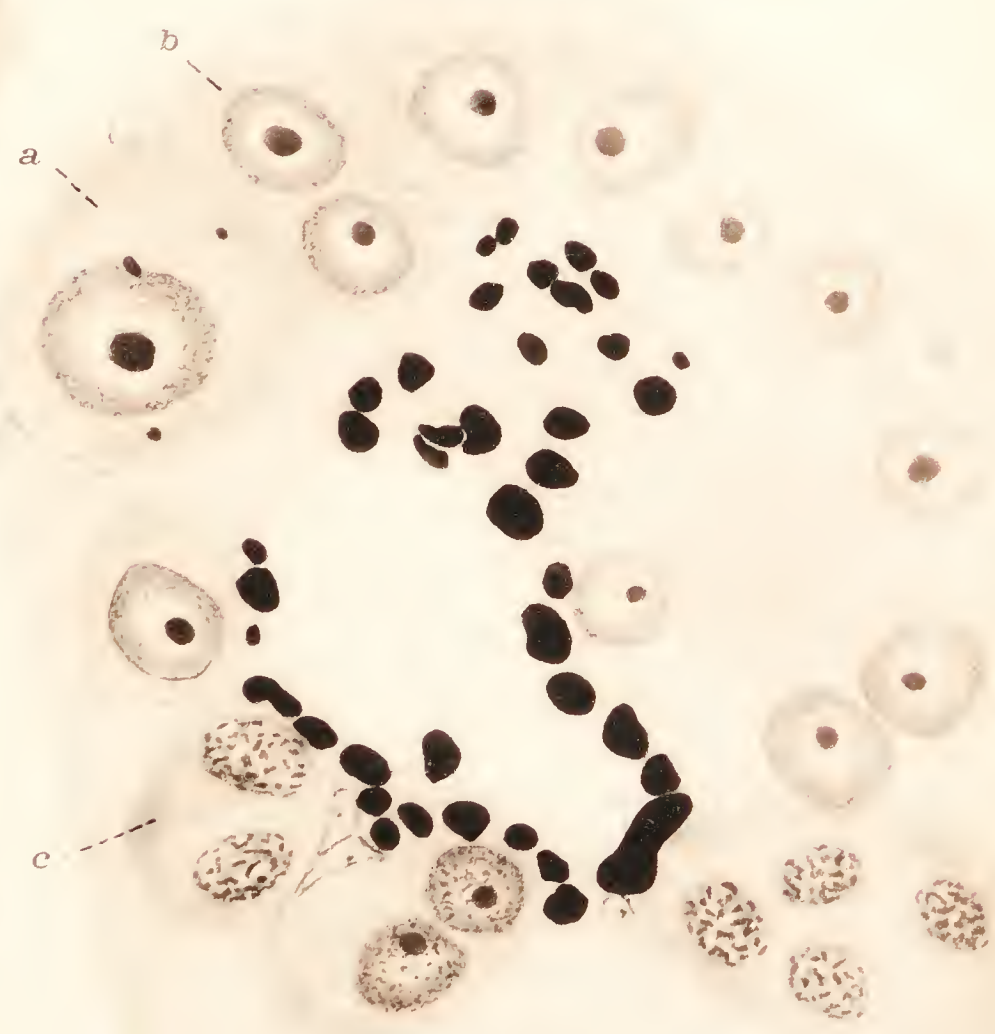
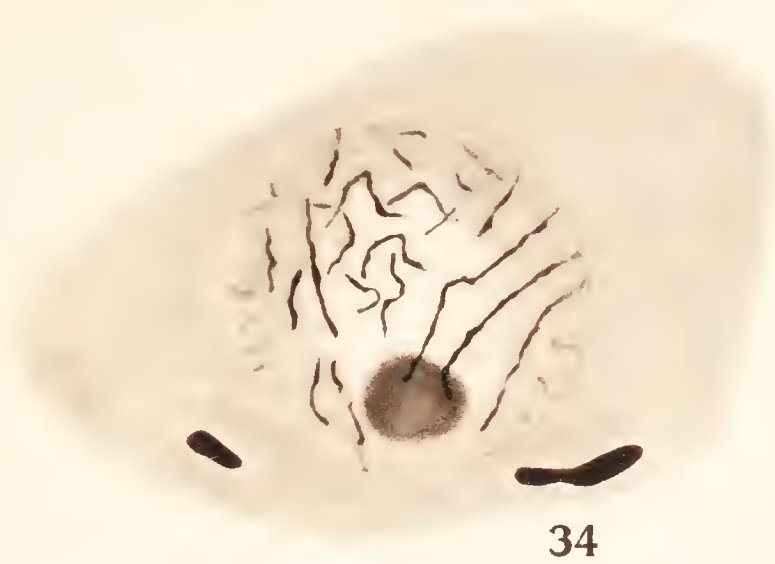



TAVOLA IV

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA IV.

Fig. 41. — Divisioni spermatogoniali. Dall'anguilla di Genova. Ingr. 3200 × circa.

Fig. 42. — Divisioni spermatogoniali dell'anguilla della fig. 39, lunga 34 cm. Ingr. 3200 × circa.

Figg. 43-44. — Vari aspetti di spermatociti in probabile fase leptotenica. Dall'anguilla di Genova. Ingr. 3200 × circa.

Fig. 45. — Spermatociti in probabile tardo pachitene. Le stesse indicazioni della figura precedente.

Figg. 46-47. — Spermatociti in probabile diacinesi. Le stesse indicazioni delle figg. 43 e 44.

Figg. 48-49.— Teste di spermatozoidi dell'anguilla di Genova (48) e (49) di un'anguilla argentina di Castiglion della Pescaia. Ingr. 3200 × circa.

Figg. 50-51. — Vari aspetti della degenerazione di spermatogoni primari, dalla anguilla argentina, lunga 34 cm., di Castiglion della Pescaia della fig. 39. Ingr. 3200 × circa.

Figg. 52-53. — Vari aspetti delle degenerazione di spermatogoni secondari; dall'anguilla di Genova (52) e da un'anguilla argentina di 33 cm. (53). Ingrandimento 3200 × circa.

Fig. 54. — Nido di spermatogoni secondari in incipiente degenerazione profasica, caratteristica della prespermatogenesi. Da una anguilla argentina di Castiglion della Pescaia lunga 34 cm. Ingr. 3200 × circa.

Fig. 55. — Stadio più avanzato di degenerazione profasica degli spermatogoni secondari. Le altre indicazioni come nella figura precedente.

Figg. 56-57. — Nidi di spermatogoni secondari in avanzata degenerazione (picnosi). Le altre indicazioni come la fig. 54.

Figg. 58-59. — Placche equatoriali di divisioni ovogoniali. Da un'anguilla lunga 30 cm. Ingr. 3200 × circa.

Figg. 60-61. — Placche equatoriali di divisioni spermatogoniali di un'anguilla argentina lunga 33 cm. Ingr. 3200 × circa.

A. Rodolico, del.

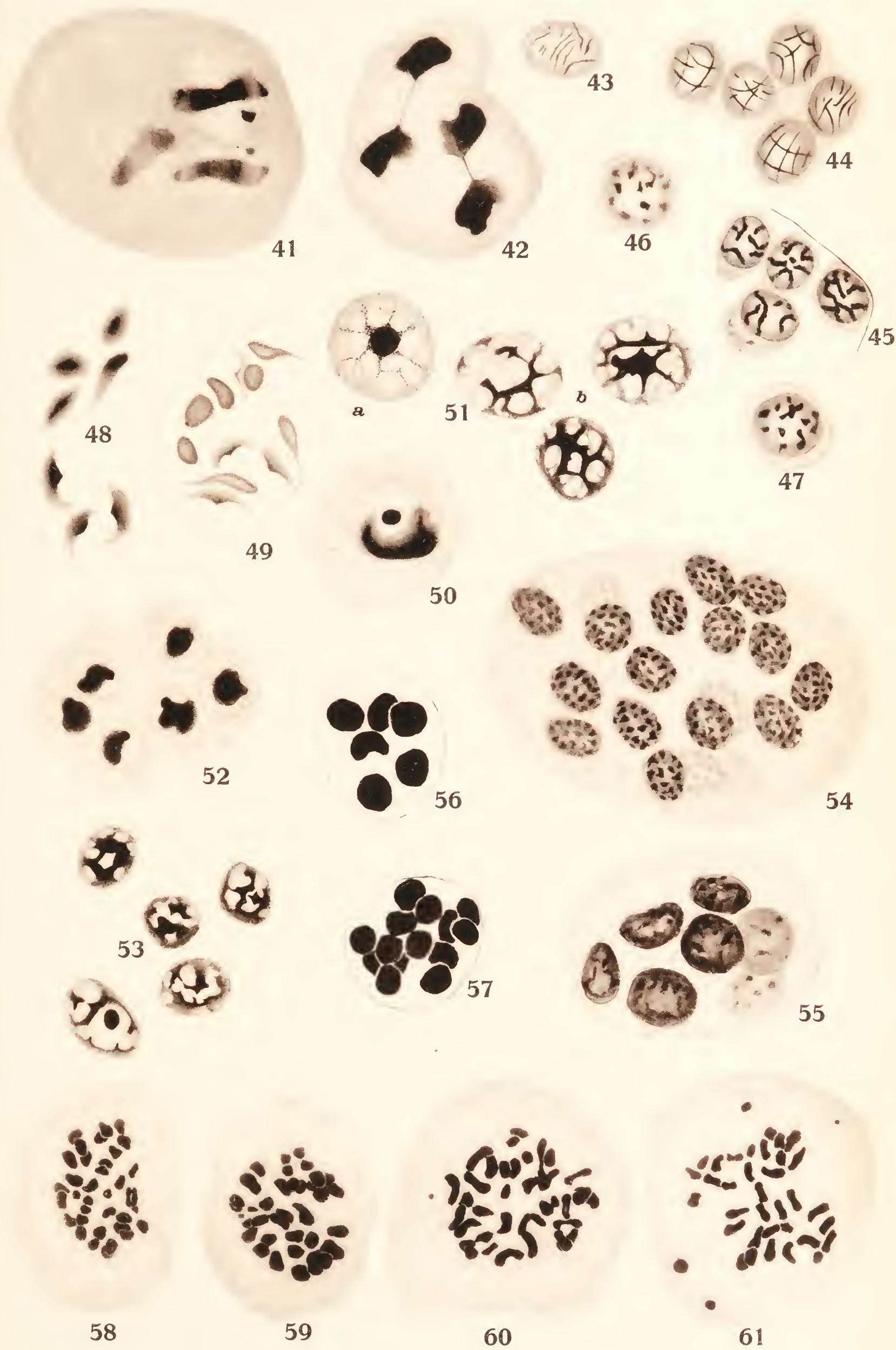
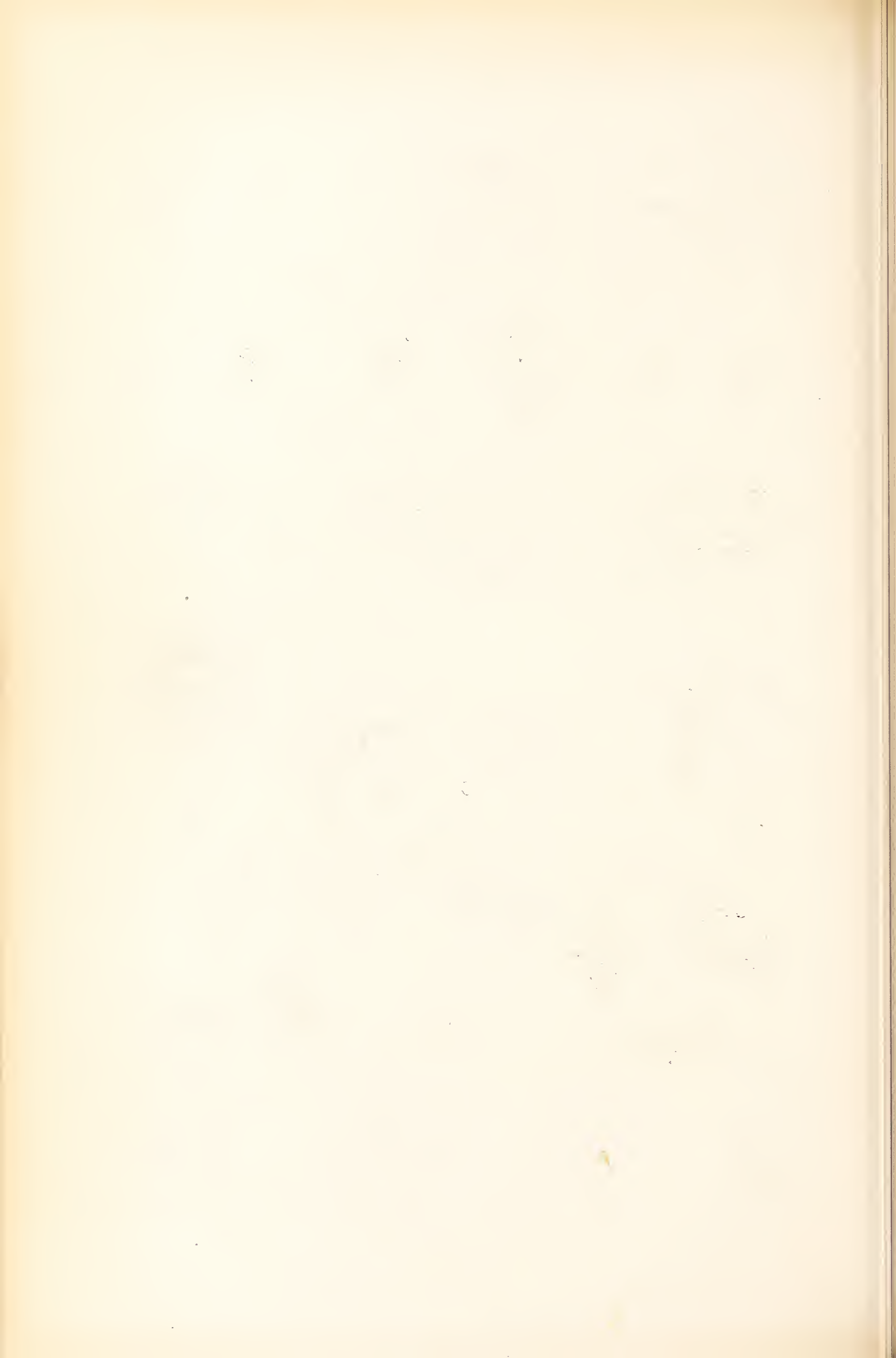



TAVOLA V

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA V.

Fig. 62. — Corpo genitale di femmina a precoce differenziazione (tipo A). Anguilla lunga 37 cm. Ingr. 120 × circa.

Fig. 63. — Corpo genitale di individuo indifferenziato (tipo B). Anguilla lunga 34 cm., *d*, condotto deferente; *o*, ovocita. Ingr. 160 × circa.

62

63

A. Rodolico, fot.

TAVOLA VI

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA VI.

Fig. 64. — Corpo genitale di femmina a tardiva differenziazione (gruppo B_1). Anguilla lunga 37 cm. Ingr. 120 × circa.

Fig. 65. — Corpo genitale di maschio (gruppo B_2). Anguilla lunga 30 cm. Ingr. 120 × circa.

64

65

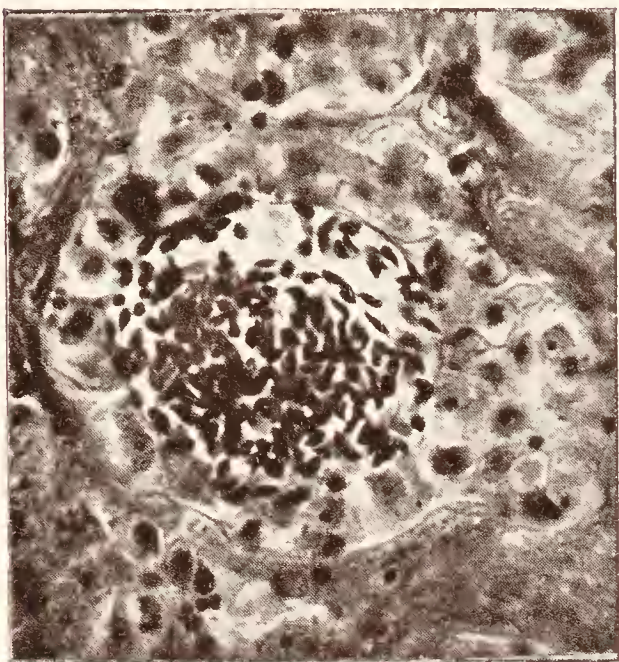
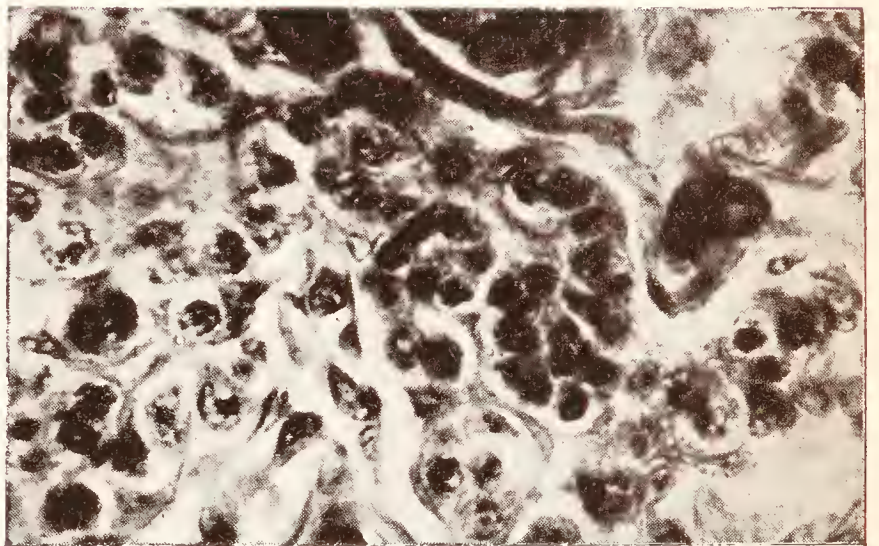
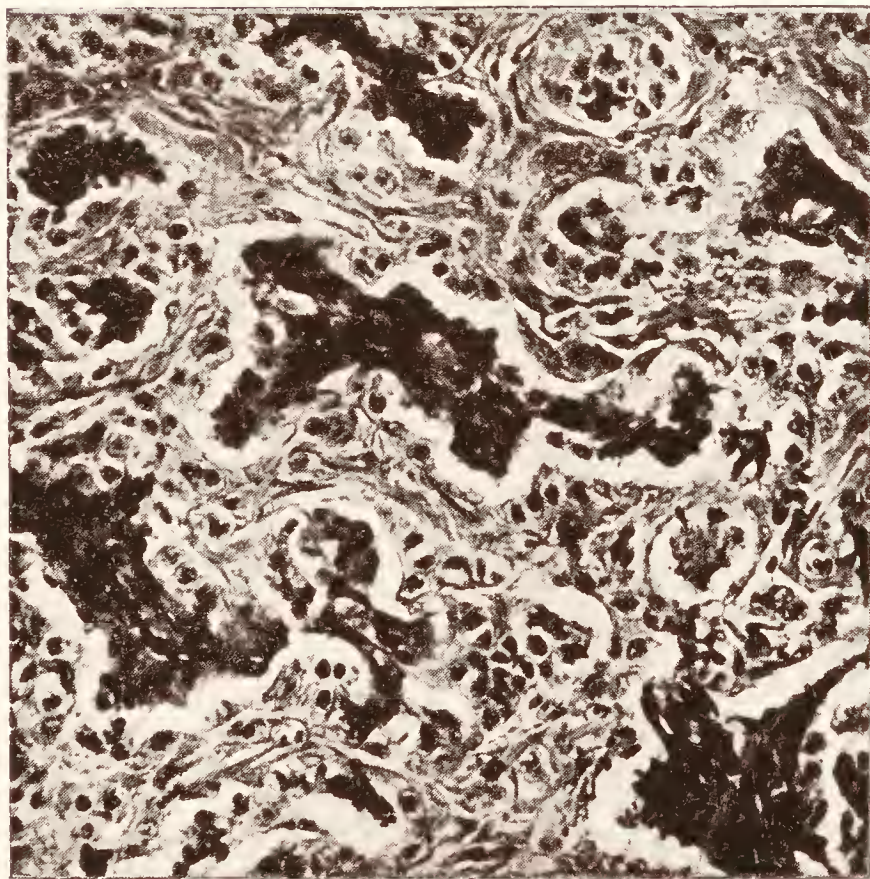
A. Rodolico, fot.

TAVOLA VII

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA VII.

Fig. 66. — Gruppo isolato di spermatozoidi apparentemente normali, in una anguilla argentina di Castiglion della Pescaia. Ingr. 1000 × circa.

Fig. 67. — Fotografia di una sezione della gonade di una anguilla argentina sottoposta a pressione per 15 giorni. Si noti al centro un gruppo di spermatogoni in incipiente degenerazione prespermacitaria. Ingr. 1300 × circa.

Fig. 68. — Sezione di una gonade di una anguilla argentina sottoposta a pressione per 30 giorni. Nei tubuli abbondanti spermi degenerati. Ingr. 650 × circa.

66

67

68

A. Rodolico, fot.

TAVOLA VIII

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA VIII.

I disegni sono stati eseguiti con obbiettivo semiapocromatico 1″/15 Koristka e oculari compensatori 4 a 8.

Le figg. 24, 25, 26 hanno ingrandimento 2020 diametri, le rimanenti di 1010 diametri. La tavola è stata ridotta di 1/4.

Figg. 1-2. — Giovani nucelle con archesporio unicellulare.

Fig. 3. — Nucella la cui cellula archesporiale presenta una vacuolizzazione abbastanza vistosa.

Fig. 4. — Cellula madre in sinapsi.

Fig. 5. — Tetrade: le quattro megaspore racchiuse ancora dall'epitelio della nucella non hanno ancora cominciato a germinare.

Fig. 6. — Tetrade: le due megaspore superiori presentano una forte vacuolizzazione disordinata, la seguente non ha germinato, l'inferiore ha un grosso vacuolo sopra il nucleo.

Fig. 7. — Tetrade: le tre megaspore superiori con forte vacuolizzazione sparsa, l'inferiore ha dato origine a un gametofito mononucleato.

Fig. 8. — Tetrade: le tre megaspore superiori degenerate, l'inferiore con un solo grosso vacuolo sopra il nucleo può già considerarsi gametofito mononucleato.

Fig. 9. — Tetrade: hanno germinato le due megaspore estreme producendo due gametofiti mononucleati, le due intermedie sono degenerate.

Fig. 10. — Gametofito mononucleato sormontato dai resti delle spore andate a male, il nucleo si prepara alla divisione.

Fig. 11. — Gametofito binucleato, un grosso vacuolo fra i nuclei e uno più piccolo fra nucleo e estremità calazale.

Fig. 12. — Giovane gametofito tetranucleato.

Fig. 13. — Gametofito tetranucleato: i nuclei posti in direzione longitudinale, due basali separati da un grosso vacuolo.

Fig. 14. — Gametofito ottonucleato, le sinergidi e l'oosfera ben delimitate, nuclei polari ancora distanti; si accenna la separazione dell'unica cellula antipodale con tre nuclei.

Fig. 15. — Sistema antipodale di tipo bicellulare ordinario di un giovane gametofito; l'antipode inferiore ha un nucleo fortemente strozzato.

Fig. 16. — Antipodi di tipo bicellulare *a* (sup. n. 2, inf. n. 2); si nota il curioso tipo di distacco fra le due cellule.

Fig. 17. — Antipodi di tipo bicellulare *a* (sup. n. 2, inf. n. 2); i due nuclei della cellula inferiore sono poco alterati, molto invece i due della cellula superiore di cui uno presenta un leggero ma netto inizio di strozzamento.

Fig. 18. — Antipodi di tipo bicellulare *a* (sup. n. 2, inf. n. 3); nuclei di ambedue le cellule fortemente involuti; nell'antipode inferiore i due nuclei soprastanti si presentano riuniti da un leggero istmo e il loro volume totale equivale a quello del nucleo inferiore. I due nuclei superiori sono stati prodotti per amitosi da un solo nucleo di grandezza equivalente al nucleo inferiore.

Fig. 19. — Antipodi di tipo bicellulare *a* (sup. n. 3, inf. n. 1).

Fig. 20. — Antipodi di tipo bicellulare *a* (sup. n. 3, inf. n. 2); dei tre nuclei della cellula superiore uno ha mantenuto il nucleolo pur trasformandosi notevolmente e uno è lobato.

Fig. 21. — Antipodi di tipo bicellulare *a* (sup. n. 4, inf. n. 1).

Fig. 22. — Antipodi di tipo bicellulare *a* (sup. n. 2, inf. n. 3).

Fig. 23. — Antipodi di epoca in cui l'embrione è in avanzato sviluppo: grosso sincarion di fusione nella cellula superiore.

Fig. 24. — Diacinesi nella divisione eterotipica della cellula madre delle microspore. Si vedono 10 gemini di cui sei sono in un piano con il nucleolo, due sono sopra e due sotto il nucleolo. I gemini in epoca di poco anteriore si mostrano fortemente spinosi.

Fig. 25. — Piastra nella divisione eterotipica della cellula madre delle microspore nella quale si contano 10 gemini.

Fig. 26. — Formazione della membrana delle microspore per strozzamento « tipo *Chrysanthemum* ». Si vedono tre macrospore riunite da tre istmi, la quarta si trova in basso a un fuoco diverso congiunta pur essa per istmi alle altre tre.

A. Rodolico, dis.

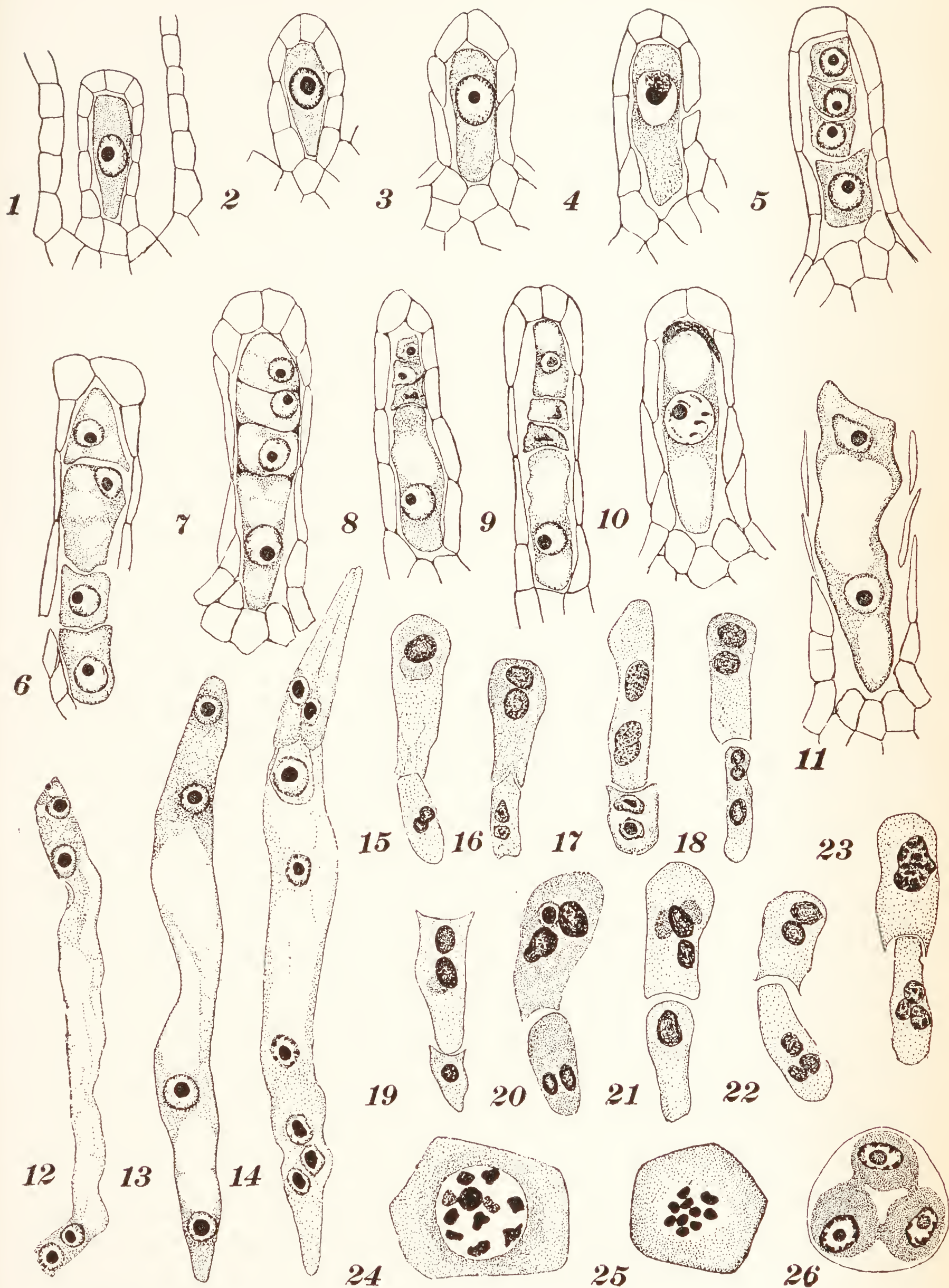



TAVOLA IX

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA IX.

I disegni sono stati eseguiti con obiettivo semiapocromatico 1''/15 Koristka e oculari compensatori 4 a 8. Le figure hanno un ingrandimento 2020 diametri. La tavola è stata ridotta di 1/3.

Fig. 27. — Gametofito poco dopo la fusione dei nuclei polari e migrazione del nucleo secondario in vicinanza dell'oosfera; le sinergidi cominciano ad accennare a una lieve indentatura sulla cellula proendospermatica; nei nuclei antipodali i nucleoli stanno disintegrandosi.

Fig. 28. — Gametofito femmineo adulto pronto alla fecondazione: si vedono chiaramente le tre parti costitutive delle sinergidi; il nucleo secondario nel nucleolo mostra due vacuoli meno rifrangenti; l'oosfera posta immediatamente sopra le sinergidi è rappresentata nella fig. 28 bis; l'antipode inferiore è stata rovinata dal taglio del coltello.

Fig. 28 bis. — Oosfera del gametofito della fig. 28.

Fig. 29. — Embrione 7-cellulato: il gametofito è ruotato di 90° rispetto a quello di fig. 28 per cui le sinergidi si sovrappongono; il tubetto pollinico ha preso rapporto con la parte basale della sinergide inferiore; l'embrione è formato da una cellula sospensore, da un segmento intermedio bicellulare, e di uno estremo tetracellulare del quale due cellule sole sono rappresentate; l'albume cellulare è già ben sviluppato: *t*) tubetto pollinico; *s*) sinergidi; *p*) prolungamento della cellula proendospermatica su cui si indenta la sinergide.

Fig. 30. — Cellule dello strato nutritivo del tappeto delle antere.

Fig. 31. — Una loggia all'epoca in cui le cellule madri delle microspore sono alla piastra della divisione eterotipica: in molte cellule si contano 10 gemini. In una cellula del tappeto si vede l'inizio di mitosi ipercromatiche abnormi.

Fig. 32. — Una loggia al principio della formazione del periplasmodio: le membrane delle cellule del tappeto si mostrano sfrangiate e un plasma omogeneo ne è sortito; i nuclei sono ancora nell'interno delle cellule: e membrane sfrangiate hanno preso intensamente l'ematossilina.

Fig. 33. — Loggia con microspore quasi perfette: i resti delle membrane del tappeto sono state riassorbite, microspore in fuochi diversi, i nuclei del periplasmodio si presentano in questa loggia quasi sferici benchè nelle vicine come in generale hanno forme svariate.

A. Rodolico, dis.

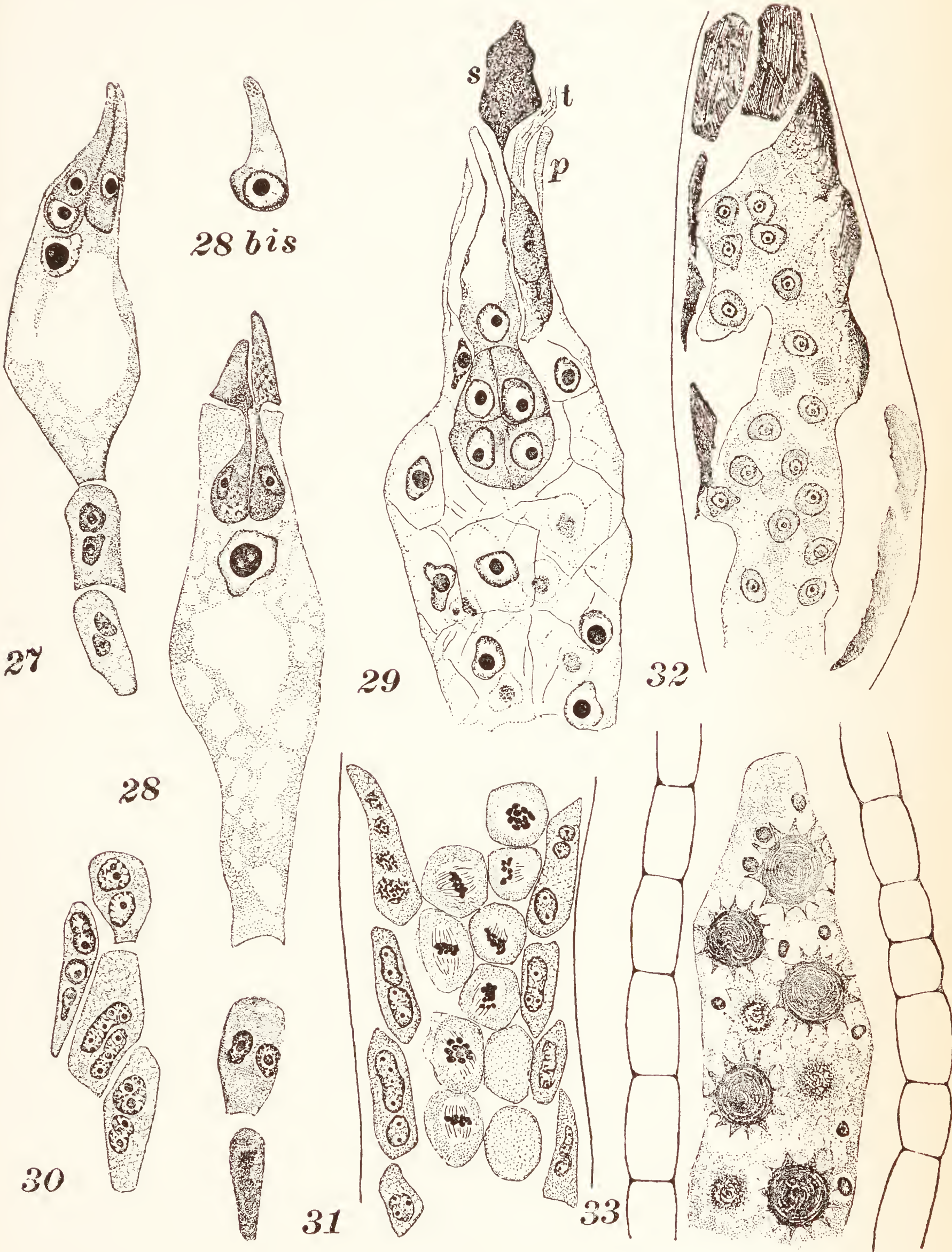



TAVOLA X

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA X.

Figg. 1-2. — *Inula viscosa* Ait. Microsporogenesi. Gemini in diacinesi.
Fig. 3. — *Inula viscosa* Ait. Microsporogenesi. Divisione eterotipica.
Fig. 4. — *Inula viscosa* Ait. Microsporogenesi. Inclusi citoplasmatici.

1

2

3

4

A. Rodolico, dis.